

IMMULITE®

IL-1 β

For use on the IMMULITE®
and IMMULITE® 1000 systems

DPC®

IMMULITE®/IMMULITE® 1000 IL-1 β

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE and IMMULITE 1000 Analyzers — for the quantitative measurement of interleukin-1 β (IL-1 β) in serum or heparinized plasma, as an aid in the clinical assessment of various immunological diseases.

Catalog Number: **LKL1Z** (50 tests), **LKL11** (100 tests)

Test Code: **I1B** Color: **Aqua**

Summary and Explanation

Interleukin-1 is an inflammatory cytokine, mainly produced by activated macrophages and peripheral neutrophils, but other cells like smooth muscle cells, astrocytes, fibroblasts, keratinocytes, T cells, B cells and NK cells are capable of IL-1 synthesis, too. The biological activity of IL-1 is exhibited in two forms: IL-1 α and IL-1 β .

The gene sequences of IL-1 α and IL-1 β were published in 1984,^{1,2} and it was determined that both genes code for proteins which show only 27% homology in their amino acid sequence. Both forms are produced as precursor proteins, showing a molecular weight of about 35 kD. In contrast to proIL-1 β , proIL-1 α shows biological activity. ProIL-1 α , as well as proIL-1 β , is proteolytically cleaved to form the 17 kD mature proteins. Because both forms lack a leader sequence, most of the IL-1 remains in the cytosol. Only in mononuclear phagocytes, between 40 and 60% of the IL-1 β is released from the cell.

Both forms of IL-1, IL-1 α and IL-1 β , bind to the same receptor^{3,4} on the cell surface of their target cells and therefore mediate similar biological actions. Different types of receptors occur on different cells. An 80 kD receptor, also called Type I receptor or p80, is primarily located on T cells, whereas the 60 kD Type II receptor can be found on B cells, granulocytes and monocytes.

The synthesis of IL-1 can be induced by a combination of other cytokines,

endotoxins, viruses, mitogens and antigens. In contrast, prostaglandin E2 and corticosteroids, lipoproteins, lipids, α 2-macroglobulin and a naturally occurring antagonist, called IL-1 receptor antagonist, inhibit IL-1 synthesis.

IL-1 mediates a wide variety of biological actions. It stimulates the production and secretion of IL-2 and the expression of IL-2 receptors by helper cells. IL-1 acts synergistically with other factors in the activation and differentiation of B cells to immunoglobulin secreting cells. Furthermore, it stimulates the activation and differentiation of NK cells, fibroblasts and thymocytes. IL-1 acts antiproliferatively on many tumor cell types, increases the tumor cytotoxicity of macrophages and induces tumor regression.

In synergy with TNF α , IL-1 activates osteoclasts and therefore plays an important role in the regulation of bone metabolism.⁵ IL-1 has different effects on the central nervous system. It is an endogenous pyrogen and causes fever in humans at doses less than 1 ng/kg.⁶ Additionally, it induces the synthesis of ACTH, endorphins, vasopressin and somatostatin.⁷

Due to the biological properties of interleukin-1 described above, the measurement of this mediator is of interest for the monitoring and diagnosis of bone diseases, inflammatory diseases, various types of cancer and many other immunological diseases.

Principle of the Procedure

IMMULITE/IMMULITE 1000 IL-1 β is a solid-phase, two-site chemiluminescent immunometric assay.

Incubation Cycles: 1 \times 60 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-1 β 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: 75 μ L serum or heparinized plasma. (Sample cup must contain at least 100 μ L more than the total volume required.)

Storage: 2 days at 2–8°C or 6 months 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-1 β Test Units (LL11)

Each barcode-labeled unit contains one bead coated with a murine monoclonal anti-IL-1 β antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.

LKL1Z: 50 units. **LKL11:** 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-1 β Reagent Wedge (LL12)

With barcode. 7.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to a rabbit polyclonal anti-IL-1 β 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.

LKL1Z: 1 wedge. **LKL11:** 2 wedges.

IL-1 β Adjustors (LL1L, LL1H)

Two vials (Low and High) containing lyophilized IL-1 β in a nonhuman serum/buffer matrix, with preservative. Reconstitute each vial with 3.0 mL distilled or deionized water. Mix by gentle, intermittent swirling. Aliquot and freeze immediately. Stable at –20°C for 2 months after reconstitution.

LKL1Z: 1 set. **LKL11:** 1 set.

Kit Components Supplied Separately

IL-1 β Sample Diluent (LL1Z)

For the manual dilution of patient samples. One vial 25 mL containing an IL-1 β -free nonhuman serum/buffer matrix. 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-1 β .

Expected Values

Samples from a total of 47 healthy individuals were assayed by the IMMULITE IL-1 β procedure. All results were below 5 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 specified, all results were generated on serum samples collected in tubes without anticoagulants, gel barriers, or clot-promoting additives.)

Calibration Range: up to 1,000 pg/mL (1st IS 86/680)

Analytical Sensitivity: 1.5 pg/mL

High-dose Hook Effect: None up to 100,000 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 10 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-1 β solutions (424, 1,058 and 1,923 pg/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for IL-1 β . (See "Specificity" table.)

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

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 381 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 3,000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Alternate Sample Type: Samples ($n = 10$) were collected into plain and heparinized vacutainer tubes.

(Heparin) = 1.02 (Serum) + 2.64 pg/mL
 $r = 0.996$

Means:
298 pg/mL (Serum)
320 pg/mL (Heparin)

EDTA and citrate plasma samples are not recommended in the IMMULITE IL-1 β procedure since they lead to erroneous results.

Method Comparison: The IMMULITE IL-1 β procedure was compared to Milenia

IL-1 β assay on 38 patient samples.
(Concentration range: approximately 13 to 604 pg/mL. See graph.) By linear regression:

$$(IML) = 1.1 (\text{Milenia}) + 6.4 \text{ pg/mL}$$

$$r = 0.995$$

Means:
150 pg/mL (IMMULITE)
136 pg/mL (Milenia)

References

1) Lomedico PT, Gubler R, Hellmann CP, Dukovich M, Giri JG, Pan JE, Collier K, Semionow R, Chua AO, Mizel SB. Cloning and expression of murine interleukin-1 cDNA in *Escherichia coli*. *Nature* 1984;312:458. 2) Auron PE, Webb AC, Rosenwasser LJ, Mucci SF, Rich A, Wolff SM, Dinarello CA. Nucleotide sequence of human monocyte interleukin-1 precursor cDNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:7907. 3) Sims JE, March CJ, Cosman D, Widmer MB, MacDonald HR, McMahan CJ, Grubin CE, Wignall JM, Jackson JL, Call SM, Friend B, Alpert AR, Gillis S, Urdal DL, Dower SK. cDNA expression cloning of the IL-1 receptor, a member of the immunoglobulin superfamily. *Science* 1988;241:585. 4) Chizzonite R, Truitt T, Kilian P, Kern A, Nunes P, Parker KP, Kaffka KL, Chua AO, Lugg DK, Gubler U. Two high affinity interleukin-1 receptors represent separate gene products. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:8029. 5) Konig A, Muhlbauer RC, Fleisch H. Tumor necrosis factor and interleukin-1 stimulate bone resorption *in vivo* as measured by ³H-tetracycline excretion from prelabeled mice. *J Bone Miner Res* 1988;3:621. 6) Tewari A, Buhles WC Jr, Starnes HF Jr. Preliminary report: effects of interleukin-1 on platelet counts. *Lancet* 1990;336: 712. 7) Rerhaug A, Michie HR, Manson JM, Watters JM, Dinarello CA, Wolff SM, Wilmore DW. Inhibition of cyclooxygenase attenuates the metabolic response to endotoxin in humans. *Arch Surg* 1988;123:162. 8) 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.

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 ¹	SD ²	CV ³
1	39	1.1	2.8%
2	190	9.3	4.9%
3	669	32	4.8%

Interassay Precision (pg/mL)

	Mean ¹	SD ²	CV ³
1	13	1.0	7.7%
2	33	3.0	9.1%
3	57	3.7	6.5%
4	111	5.4	4.9%
5	206	10.3	5.0%
6	397	23	5.8%
7	785	38	4.8%
8	973	56	5.8%

Recovery (pg/mL)

	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	10.8	—	—
	A	32	31	103%
	B	69	63	110%
	C	121	106	114%
2	—	126	—	—
	A	141	141	100%
	B	163	173	94%
	C	213	216	99%
3	—	369	—	—
	A	372	372	100%
	B	387	403	96%
	C	437	447	98%

Specificity

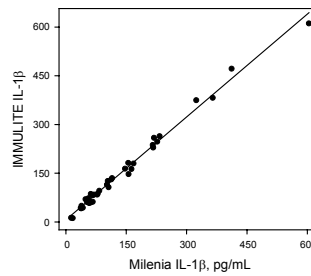
Compound ¹	pg/mL Added ²	Apparent pg/mL ³	% Cross-reactivity ⁴
IL-1 α	10,000	ND	ND
IL-2	10,000	ND	ND
IL2R	10,000	ND	ND
IL-4	10,000	ND	ND
IL-5	10,000	ND	ND
IL-6	10,000	ND	ND
IL-8	10,000	ND	ND
IL-10	10,000	ND	ND
IFN γ	10,000	ND	ND
TNF α	10,000	ND	ND
Pure Horse Serum	—	ND	ND

ND: not detectable.⁵

Linearity (pg/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	8 in 8 ⁵	42.2	—	—
	4 in 8	20.1	21.1	95%
	2 in 8	10.2	10.6	96%
	1 in 8	4.8	5.3	91%
2	8 in 8	184	—	—
	4 in 8	84	92	91%
	2 in 8	43	46	93%
	1 in 8	22	23	96%
3	8 in 8	190	—	—
	4 in 8	98	95	103%
	2 in 8	45	48	94%
	1 in 8	23	24	96%
4	8 in 8	980	—	—
	4 in 8	500	490	102%
	2 in 8	269	245	110%
	1 in 8	142	123	115%

Method Comparison



$$(IML) = 1.1 (\text{Milenia}) + 6.4 \text{ pg/mL}$$

$$r = 0.995$$

Deutsch. Intraassay Precision: ¹Mittelwert, ²S (Standardabweichung), ³CV (Variationskoeffizient). **Interassay Precision:** ¹Mittelwert, ²SD (Standardabweichung), ³CV (Variationskoeffizient). **Recovery:** ¹Probe, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E.

Specificity: ¹Verbindung, ²zugesetzte Menge, ³Gemessene Konzentration, ⁴% Kreuzreaktivität, ⁵NN: Nicht nachweisbar. **Linearity:** ¹Verdünnung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵8 in 8. **Method Comparison:** IL-1 β : Interleukin-1beta.

Español. Intraassay Precision: ¹Media, ²DS, ³CV. **Interassay Precision:** ¹Media, ²DS, ³CV. **Recovery:** ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Specificity:** ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³Concentración aparente, ⁴% Reacción cruzada, ⁵ND: no detectable. **Linearity:** ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 in 8. **Method Comparison:** IL-1 β : IL-1 Beta.

Français. Intraassay Precision: ¹Moyenne, ²SD, ³CV. **Interassay Precision:** ¹Moyenne, ²SD, ³CV. **Recovery:** ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A. **Specificity:** ¹Composé, ²ajouté, ³Concentration apparente, ⁴Réaction croisée%, ⁵ND: non détectable. **Linearity:** ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A, ⁵8 dans 8. **Method Comparison:** IL-1 β : IL1 bêta.

Italiano. Intraassay Precision: ¹Media, ²SD (Deviazione Standard), ³CV (Coefficiente di Variazione). **Interassay Precision:** ¹Media, ²SD (Deviazione Standard), ³CV (Coefficiente di Variazione). **Recovery:** ¹Soluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A. **Specificity:** ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Concentrazione apparente, ⁴Percentuale di Crossreattività, ⁵ND: non determinabile. **Linearity:** ¹Diluizione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A, ⁵8 in 8. **Method Comparison:** IL-1 β : IL-1 Beta.

Português. Intraassay Precision: ¹Média, ²Desvio padrão, ³Coefficiente de variação. **Interassay Precision:** ¹Média, ²Desvio padrão, ³Coefficiente de variação. **Recovery:** ¹Solução,

²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E.
Specificity: ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Apparent Concentration, ⁴Percentagem de reacção cruzada. ⁵ND: não detectável. **Linearity:** ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 em 8. **Method**
Comparison: IL-1 β : Interleuquina 1-Beta.

Deutsch

Interleukin-1beta

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE und IMMULITE 1000 Systeme – zur quantitativen Messung von Interleukin-1 β im Serum und Heparin-Plasma, als Hilfe in der klinischen Einschätzung der verschiedenen immunologischen Krankheiten benutzt.

Artikelnummern:
LKL1Z (50 Tests), **LKL11** (100 Tests)
Testcode: **I1B** Farbe: **hellblau**

Klinische Relevanz

Interleukin-1 ist ein Zytokin der Entzündungskaskade. Es wird hauptsächlich durch aktivierte Makrophagen und periphere neutrophile Zellen produziert. Aber auch andere Zellen wie z.B. glatte Muskelzellen, Astrozyten, Fibroblasten, Keratinozyten, T-Zellen, B-Zellen und NK-Zellen sind zur IL-1 Synthese fähig. Die biologische Aktivität charakterisiert sich in zwei verschiedenen Strukturformen: IL-1 α und IL-1 β .

Die Gensequenzen von IL-1 α und IL-1 β ^{1,2} wurden 1984 publiziert. Es konnte gezeigt werden, daß die beiden Gene Proteine kodieren die nur eine 27% tige Homologie in ihrer Aminosäuresequenz aufweisen. Beide Formen werden als Vorläuferproteine mit einem Molekulargewicht von 35 kD produziert. Im Gegensatz zum proIL-1 β zeigt das proIL-1 α eine biologische Aktivität. ProIL-1 α wird, ebenso wie das IL-1 β proteolytisch zum reifen 17 kD Protein gespalten. Da beide Formen keine Leitsequenz aufweisen verbleibt das meiste IL-1 im Cytosol. Nur aus mononukleären Phagozyten wird 40–60% des IL-1 β freigesetzt.

Beide Formen des IL-1, IL-1 α und IL-1 β , binden an den selben Rezeptor ^{3,4} auf der

Oberfläche ihrer Zielzellen. Deshalb kommt es zu ähnlichen biologischen Reaktionen. Unterschiedliche Rezeptorausprägungen finden sich auf unterschiedlichen Zellen. Ein 80 kD Rezeptor, bezeichnet als Typ I – bzw. p80-Rezeptor, ist in erster Linie auf T Zellen lokalisiert. Wohingegen der 60 kD Typ II Rezeptor auf B Zellen, Granulozyten und Monozyten gefunden wird.

Die Synthese des IL-1 kann durch eine Kombination anderer Zytokine, Endotoxine, Viren, Mitogene und Antigenen induziert werden. Die Hemmung der IL-1 Synthese erfolgt durch Prostaglandin E2, Corticosteroide, Lipoproteinen, Lipide, α 2-Macroglobulin und einem natürlich vorkommenden spezifischen Antagonisten, dem sogenannten IL-1 Rezeptorantagonisten.

IL-1 beeinflusst ein breites Spektrum biologischer Reaktionen. Es stimuliert die Produktion, sowie die Sekretion des IL-2 und die Expression des IL-2 Rezeptors durch Helferzellen. IL-1 wirkt synergistisch zusammen mit anderen Faktoren in der Aktivierung und Differenzierung der B-Zellen zu Immunglobulin ausschüttenden Zellen. Weiterhin stimuliert es die Aktivierung und Differenzierung der NK-Zellen, Fibroblasten und Thymozyten. IL-1 wirkt antiproliferativ auf viele unterschiedliche Tumorzelltypen, steigert die Tumorzytotoxizität der Makrophagen und induziert Tumorabbau.

In Synergie mit dem TNF- α aktiviert IL-1 die Osteoklasten und spielt deshalb eine wesentliche Rolle in der Regulation des Knochenstoffwechsels ⁵. IL-1 hat verschiedene Effekte auf das Zentralnervensystem. Es ist ein endogenes Pyrogen, das im Menschen in Dosen von kleiner 1 ng/kg ⁶ Körpergewicht Fieber verursacht. Zusätzlich induziert es auch die Synthese von ACTH, Endorphin, Vasopressin und Somatostatin. ⁷

Die vorstehend beschriebenen biologischen Eigenschaften des IL-1 lassen die Messung dieses Mediators im Monitoring und in der Diagnose von Knochenerkrankungen, entzündlichen Erkrankungen, verschiedenen Tumorarten und vielen anderen Immunerkrankungen empfehlenswert erscheinen.

Methodik

IMMULITE/IMMULITE 1000 IL-1 β ist ein Festphasen, Zwei-phasen Chemilumineszenz immunometrischer Assay.

Inkubationszyklen: 1 \times 60 min.

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 mit Vorsicht zu interpretieren

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analyseergebnissen 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 IL-1 β sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 75 μ l Serum oder Heparin-Plasma (Inhalt der Probenträger muss mindestens 100 μ l über der erforderlichen Gesamtmenge liegen.)

Lagerung: 2 Tage bei 2–8°C, oder 6 Monate 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 Komponenten sind aufeinander abgestimmt. Die Barcode-Etiketten werden für den Assay benötigt.

IL-1 β - Testeinheiten (LL11)

Jede mit Barcode-Etikette versehene Einheit enthält eine mit monoklonalem Anti-IL-1 β -Mausantikörper beschichtete Kugel. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

LKL12: 50 Testeinheiten

LKL11: 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-1 β - Reagenzbehälter (LL12)

Mit Barcode. 7,5 ml mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiertes polyklonales anti-IL-1 β - (Hase) in Pufferlösung, (mit Konservierungsmittel). Verschlossen und gekühlt aufbewahren: Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar. Bei entsprechender Lagerung beträgt die empfohlene Aufbrauchsfrist nach dem Öffnen 30 Tage.

LKL1Z: 1 Behälter.
LKL11: 2 Behälter.

IL-1 β -Kalibratoren (LL1L, LL1H)

Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit lyophilisiertem IL-1 β in einer nichthumanen Serum-/Puffermatrix, (mit Konservierungsmittel). Fläschchen mit je **3,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Zum Mischen leicht schwenken oder umdrehen. Sofort aliquotieren und einfrieren. Nach Rekonstituierung 2 Monate bei -20°C haltbar.

LKL1Z: 1 Set. **LKL11:** 1 Set.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

IL-1 β -Verdünnungspuffer (LL1Z)

Zum manuellen Verdünnen der Patientenproben. Ein Fläschchen (25 ml) mit IL-1 β -freier nichthumaner Serum-/Puffermatrix. 14 Tage nach dem Öffnen bei $2-8^{\circ}\text{C}$ haltbar oder 6 Monate bei -20°C (aliquotiert).

LSUBX: Chemilumineszenz-Substrat

LPWS2: Pipettenwaschlösung

LKPM: Pipettenreinigungssset

LCHx-y: Halterungen für die Probenschalen (mit Barcodierung)

LSCP: Probenschalen (Einwegartikel)

LSCC: Verschlüsse für die Probenschalen (optional)

LILCM: Ein auf Humanserum basierendes, IL-1 β enthaltendes Zytokin-Kontrollmodul für IMMULITE 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-1 β in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Referenzwerte

In einer vorläufigen Studie des Herstellers basierend auf der Messung von 47 Seren gesunder Blutspender ergaben sich Werte, die alle kleiner 5 pg/ml waren.

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

Grenzen der Methode

Heterophile Antikörper in Humanserum 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 1 000 pg/ml
(1st IS 86/680)

Analytische Sensitivität: 1,5 pg/ml

High-Dose-Hook-Effect: Bis 100 000 pg/ml keiner.

Präzision im einzelnen Testansatz (intraassay): Statistik aus einem einzelnen Testansatz mit 20 Einzelmessungen (siehe Tabelle „Intraassay Precision“).

Präzision zwischen Testansätzen (interassay): Statistik aus 10 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 IL-1 β -Lösungen 1:19 IL-1 β -versetzt (424, 1 058 und 1 923 pg/ml). (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Hochspezifischer Anti-IL-1 β -Antikörper (siehe Tabelle „Specificity“).

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

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 381 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 3 000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Alternative Probenarten: Die Proben ($n = 10$) wurden in unbehandelte und heparinisierte-behandelte Vacutainer-Röhrchen gefüllt.

(Heparin) = 1,02 (Serum) + 2,64 pg/ml
 $r = 0,996$

Mittelwerte:
298 pg/ml (Serum)
320 pg/ml (Heparin)

Von EDTA- und Zitratplasmaproben wird abgeraten, da sie zu fehlerhaften Ergebnissen führen können.

Methodenvergleich: Der Assay wurde unter Verwendung von 38 Patientenproben mit Milenia IL-1 β -verglichen. (Konzentrationsbereich ca. 13–604 pg/ml. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML) = 1,1 (Milenia) + 6,4 pg/ml
 $r = 0,995$

Mittelwerte:
150 pg/ml (IMMULITE)
136 pg/ml (Milenia)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

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

Español

IL-1 Beta

Utilidad del análisis: Para su uso en el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE e IMMULITE 1000 — para la cuantificación de interleucina-1 β (IL-1 β) en suero o en plasma heparinizado, como ayuda en la valoración clínica de diversas enfermedades inmunológicas.

Números de Catálogo: **LKL1Z** (50 tests), **LKL11** (100 tests)

Código del Test: **I1B** Color: **Agua**

Resumen y Explicación del Test

Interleucina-1 es una citoquina inflamatoria, producida principalmente por macrófagos activados y neutrófilos periféricos, aunque hay otras células, tales como las células del músculo liso, los astrocitos, los fibroblastos, los queratinocitos, las células T, las células B y las células NK que también pueden realizar la síntesis de IL-1. La actividad biológica de IL-1 se manifiesta de dos formas: IL-1 α e IL-1 β .

Las secuencias génicas de IL-1 α e IL-1 β se publicaron en 1984,^{1,2} y se determinó que ambos genes codifican proteínas, muestran sólo un 27% de homología en su secuencia de aminoácidos. Ambas formas se producen como proteínas precursoras, mostrando un peso molecular de cerca de 35 kD. A diferencia de proIL-1 β , proIL-1 α muestra actividad biológica. ProIL-1 α , así como proIL-1 β , se dividen proteolíticamente para formar las proteínas maduras de 17 kD. Como ambas formas carecen de una secuencia

directora, la mayor parte de IL-1 permanece en el citosol. Sólo se libera entre 40 y 60% de la IL-1 β de la célula en los fagocitos mononucleares.

Ambas formas de IL-1, IL-1 α e IL-1 β , se unen al mismo receptor^{3,4} en la superficie celular de sus células blanco y, por lo tanto, median en acciones biológicas similares. Los tipos de receptores varían según las células. Hay un receptor de 80 kD, también llamado receptor del Tipo I o p80, que se encuentra principalmente en las células T, mientras que el receptor de 60 kD del Tipo II se encuentra en células B, granulocitos y monocitos.

La síntesis de la IL-1 puede inducirse mediante una combinación de otras citoquinas, endotoxinas, virus, mitógenos y antígenos. Sin embargo, la prostaglandina E2 y los corticoesteroides, las lipoproteínas, los lípidos, la α 2-macroglobulina y un antagonista que se produce de forma natural, llamado antagonista receptor IL-1, inhiben la síntesis de la IL-1.

IL-1 interviene en una gran variedad de acciones biológicas. Estimula la producción y secreción de IL-2 y la expresión de receptores de IL-2 por medio de las células auxiliares. En la activación y diferenciación de células B en células secretoras de inmunoglobulina, la IL-1 se comporta de forma sinérgica con otros factores. Más aún, estimula la activación y la diferenciación de las células NK, de los fibroblastos y timocitos. La IL-1 se comporta de forma antiproliferativa en muchos tipos de células tumorales, aumenta la citotoxicidad tumoral de los macrófagos e induce la regresión tumoral.

En sinergia con TNF α , IL-1 activa los osteoclastos, por lo que desempeña un papel importante en la regulación del metabolismo óseo.⁵ IL-1 tiene distintos efectos sobre el sistema nervioso central. Es un pirógeno endógeno que provoca fiebre en los humanos a dosis inferiores a 1 ng/kg.⁶ Además, induce la síntesis de ACTH, endorfinas, vasopresina y somatostatina.⁷

A la vista de las propiedades biológicas de la interleucina-1 descritas anteriormente, la medición de este mediador es interesante para el control y el diagnóstico de enfermedades óseas, enfermedades inflamatorias, diversos

tipos de cáncer y muchas otras enfermedades inmunológicas.

Principio del análisis

IMMULITE/IMMULITE 1000 IL-1 β es un ensayo inmunométrico con dos sitios de unión, quimioluminiscente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 60 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-1 β IMMULITE/IMMULITE 1000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos. Para obtener detalles sobre los tipos tubos que se han analizado, consulte la sección de Tipos de Muestras Alternativas.

Volumen requerido: 75 μ l suero o plasma heparinizado. (El recipiente de la muestra debe contener, como mínimo, 100 μ l más que el volumen total requerido).

Conservación: 2 días a 2–8°C, o 6 meses 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 sodica, 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.

Substrato quimioluminiscente: Evitar 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-1 Beta (LL11)

Cada unidad etiquetada con código de barras contiene una bola recubierta de anticuerpos monoclonales de murino anti-IL-1 β . Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

LKL12: 50 unidades.

LKL11: 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-1 Beta (LL12)

Con códigos de barras. 7,5 ml Fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpo policlonal de conejo anti-IL-1 β , 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.

LKL12: 1 vial. **LKL11:** 2 viales.

Ajustadores de IL-1 Beta (LL1L, LL1H)

Dos viales (bajo y alto) de IL-1 β liofilizada en una matriz de suero no humano, en solución tampón, con conservante.

Reconstituya cada vial con **3,0 ml** de agua destilada o desionizada. Mezclar suavemente con movimientos giratorios intermitentes. Alicuote y congele inmediatamente. Estable a –20°C durante 2 meses tras su reconstitución.

LKL12: 1 juego. **LKL11:** 1 juego.

Componentes del kit que se suministran por separado

Diluyente de IL-1 Beta (LL1Z)

Para la dilución manual de las muestras de los pacientes. Un vial (25 ml) de matriz de suero no humano, libre de IL-1 β , en solución tampón. Estable a 2–8°C durante 14 días después de abrise, o hasta 6 meses (alícuotados) a –20°C.

LSUBX: Substrato 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 IMMULITE (de dos niveles y basado en suero humano)

También necesario

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 rección para asegurarse de que hay una bola antes de introducirla en el Sistema.

Intervalo de ajuste recomendado:
2 semanas.

Muestras de Control de Calidad: Utilizar controles o pools de sueros con al menos dos niveles diferentes de IL-1 Beta (bajo y alto).

Valores Esperados

Se analizaron las muestras de un total de 47 personas sanas mediante el ensayo IL-1 β IMMULITE. Todas las muestras estaban por debajo de 5 pg/ml.

Estos límites han de considerarse sólo como una guía. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos 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 ver 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).

Rango de Calibración: up to 1 000 pg/ml (1st IS 86/680)

Sensibilidad: 1,5 pg/ml

Efecto de gancho a altas dosis:
Ninguno hasta 100 000 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. (Ver la tabla de "Intraassay Precision").

Precisión entre ensayos (de una tanda a otra): Se han calculado datos estadísticos para las muestras analizadas en 10 tomas distintas. (Ver la tabla de "Interassay Precision").

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

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres soluciones de IL-1 beta (424, 1 058 y 1 923 pg/ml). (Ver la tabla de "Recovery" para resultados representativos.)

Especificidad: El anticuerpo es altamente específico para IL-1 β . (Véase la tabla "Specificity").

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

Hemólisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 381 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 3 000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Tipo alternativo de muestra: Se han recogido muestras ($n = 10$) en tubos Vacutainers sin anticoagulante y heparinizados.

(Heparina) = 1,02 (Suero) + 2,64 pg/ml
 $r = 0,996$

Medias:
298 pg/ml (Suero)
320 pg/ml (Heparina)

No se recomiendan las muestras de plasma EDTA ni de plasma citrato porque producen resultados erróneos.

Comparación del Método: El ensayo se ha comparado con el Milenia IL-1 β en 38 muestras de pacientes. Por regresión lineal. (Rango de Concentración: aproximadamente 13 a 604 pg/ml. Ver el gráfico.) Por regresión lineal:

$$(IML) = 1,1 (\text{Milenia}) + 6,4 \text{ pg/ml}$$
$$r = 0,995$$

Medias:
150 pg/ml (IMMULITE)
136 pg/ml (Milenia)

Asistencia técnica

Contacte con su Distribuidor Nacional.

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

Français

IL1 béta

Domaine d'utilisation : Dosage quantitatif de l'interleukine-1 β (IL-1 β) dans le sérum ou le plasma hépariné. Réservé à un usage diagnostic *in vitro* avec les analyseurs IMMULITE et IMMULITE 1000, ce test constitue une aide pour l'évaluation clinique de divers désordres immunitaires.

Ce réactif est enregistré auprès de l'Agence du Médicament.

Référence catalogue : **LKL1Z** (50 tests), **LKL11** (100 tests)

Code produit : **11B**.
Code couleur : **bleu vert**.

Introduction

L'interleukine-1 est une cytokine inflammatoire surtout produite par les macrophages activés et les neutrophiles périphériques, mais aussi par d'autres cellules comme les cellules musculaires lisses, les astrocytes, les fibroblastes, les kératinocytes, les lymphocytes T et B et les cellules NK. L'activité biologique de l'IL-1 est rendue par l'IL-1 α et l'IL-1 β .

Les séquences des gènes IL-1 α et IL-1 β ont été publiées en 1984.^{1,2} Toutes deux encodent des protéines qui ne présentent que 27% d'homologie dans leur séquence d'acides aminés. Les deux formes sont synthétisées sous la forme d'un précurseur, d'un poids moléculaire de

35 kDa environ. Contrairement à la pro-IL-1 β , la pro-IL-1 α possède une activité biologique. La pro-IL-1 α et la pro-IL-1 β , sont clivés par coupure protéolytique en protéines matures de 17 kDa. Les deux formes étant dépourvues de séquence d'adressage, la majeure partie de l'IL-1 demeure dans le cytosol. Seuls les monocytes macrophages excrètent 40 à 60% environ de l'IL-1 β produite.

Les deux formes de l'IL-1 se lient au même récepteur de surface^{3,4} de leurs cellules cibles et médient ainsi des effets biologiques similaires. Différents types de récepteur à IL-1 sont présents en surface des cellules. Un récepteur de 80 kDa, également appelé récepteur de type I ou p80, est principalement localisé sur le lymphocytes T, cependant qu'un récepteur de type II, de 60 kDa, est retrouvé en surface des lymphocytes B, des granulocytes et des monocytes.

La synthèse d'IL-1 peut être induite par une association d'autres cytokines, d'endotoxines, de virus, de mitogènes ou d'antigènes. A l'opposé, la prostaglandine E2 et les corticostéroïdes, les lipoprotéines, les lipides, l' α 2-macroglobuline ainsi qu'un antagoniste naturel appelé antagoniste de récepteur IL-1, inhibent la synthèse d'IL-1.

L'IL-1 médie un vaste ensemble d'activités biologiques. Elle stimule la production et la sécrétion d'IL-2 et l'expression des récepteurs de l'IL-2 par les cellules auxiliaires (*helper*). L'IL-1 agit en synergie avec d'autres facteurs d'activation et de différenciation des cellules B en plasmocytes sécréteurs d'immunoglobulines. De plus, elle stimule l'activation et la différenciation des cellules NK, des fibroblastes et des thymocytes. L'IL-1 a une action anti-proliférative sur de nombreux types tumoraux, augmente la cytotoxicité des macrophages pour les tumeurs et induit la régression tumorale.

En synergie avec le TNF α , l'IL-1 active les ostéoclastes et joue donc un rôle important dans la régulation du métabolisme osseux.⁵ L'IL-1 a différents effets sur le système nerveux central. C'est un pyrogène endogène qui entraîne une fièvre chez l'homme à des concentrations inférieures à 1 ng/kg.⁶ De plus, elle induit la synthèse d'ACTH,

d'endorphines, de vasopressine et de samatostatine.

En raison des propriétés biologiques de l'interleukine-1 décrites plus haut, le dosage de cet intermédiaire présente un intérêt pour le suivi et le diagnostic des maladies osseuses, des maladies inflammatoires, de différents types de cancer et de beaucoup d'autres désordres immunitaires.

Principe du test

IMMULITE/IMMULITE 1000 IL-1 β est un dosage chimiluminescent immunométrique, en deux étapes, en phase solide.

Cycles d'incubation : 1 \times 60 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 IL1 bêta 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 : 75 μ l de sérum ou de plasma hépariné. (le godet échantillon

doit pouvoir contenir au moins 100 μ l de plus que le volume total nécessaire.)

Conditions de conservation :
2 jours à +2°C/+8°C ou 6 mois à -20°C.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Réactifs : conserver les réactifs à +2°/+8°C. Eliminer 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 à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser uniquement 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 IL1 bêta (LL11)

Chaque test unitaire à code-barre contient une bille revêtue d'anticorps monoclonal murin anti-IL-1 β . Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption.

LKL12: 50 unités. **LKL11**: 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 IL1 bêta (LL12)

Avec code-barres. 7,5 ml d'un anticorps polyclonal de lapin anti-IL-1 β dans un

tampon conjugué à de la phosphatase alcaline (intestins de veau), avec conservateur. Conserver bouché et réfrigéré : stable à +2/ +8°C jusqu'à la date de péremption. A utiliser de préférence dans les 30 jours qui suivent l'ouverture, si les recommandations de stockage sont respectées.

LKL1Z: 1 cartouche.

LKL11: 2 cartouches.

Ajusteurs IL1 bêta (LL1L, LL1H)

Deux flacons (« bas » et « haut ») d'IL-1 β lyophilisée dans une matrice tampon/ sérum non-humain, avec conservateur.

Reconstituer chaque flacon avec **3,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger en retournant (sans secouer) de temps à autre. Aliquoter et congeler immédiatement. Stable à -20°C pendant 2 mois après reconstitution.

LKL1Z: 1 jeu. **LKL11**: 1 jeu.

Composants du coffret fournis séparément

Diluant échantillon IL1 bêta (LL1Z)

Pour la dilution manuelle des échantillons cliniques. Un flacon (25 ml) de matrice tampon/ sérum non-humain exempt de IL-1 β . Stable à +2/ +8°C pendant 14 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à -20°C.

LSUBX : Substrat chimiluminescent

LPWSM : Solution de lavage

LKPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

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

LSCP : unités échantillons (à usage unique)

LSCC : Bouchons pour unités échantillons (optionnel)

LILCM: Contrôle IMMULITE *Cytokine* (deux niveaux de concentration, à base de sérum humain)

Egalement requis

Pipettes pour transfert d'échantillon ; 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 de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) d'IL1 bêta.

Valeurs de référence

Des échantillons provenant d'un total de 47 individus en bonne santé ont été dosés suivant le protocole *IL-1 β IMMULITE*.

Tous les échantillons contenaient moins de 5 pg/ml d'IL-1 β .

Utiliser ces valeurs à *titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait 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 très 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 en tubes, sans gel ni activateur de la coagulation)

Domaine de mesure : up to 1 000 pg/ml (1st IS 86/680)

Sensibilité analytique : 1,5 pg/ml

Accoutumance aux doses élevées : aucune jusqu'à 100 000 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 10 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'IL1 bêta (424, 1 058 et 1 923 pg/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : l'anticorps utilisé est hautement spécifique de l'IL-1 β . (Voir le tableau « Specificity ».)

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.

Hémolyse : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 381 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3 000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Utilisation de différents types d'échantillons : les échantillons ($n = 10$)

ont été recueillis dans des tubes vacutainer secs et héparinés.

(Héparine) = 1,02 (Sérum) + 2,64 pg/ml
 $r = 0,996$

Moyennes:
298 pg/ml (Sérum)
320 pg/ml (Héparine)

Les échantillons plasmatiques EDTA ou citrate ne sont pas recommandés parce qu'ils conduisent à des résultats erronés.

Comparaison de méthodes : le test a été comparé à Milenia IL-1 β sur 38 échantillons (dont les concentrations allaient d'environ 13 à 604 pg/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML) = 1,1 (Milenia) + 6,4 pg/ml
 $r = 0,995$

Moyennes :
150 pg/ml (IMMULITE)
136 pg/ml (Milenia)

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

IL-1 Beta

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con gli Analizzatori IMMULITE ed IMMULITE 1000 — per la misurazione quantitativa dell'Interleuchina-1 β (IL-1 β) nel siero o nel plasma eparinizzato, quale ausilio nella valutazione clinica di varie malattie immunologiche.

Codice: **LKL1Z** (50 test), **LKL11** (100 test)

Codice del Test: **11B** Colore: **acqua**

Riassunto e spiegazione del Test

L'Interleuchina-1 è una citochina infiammatoria, prodotta principalmente dai macrofagi e dai neutrofilii periferici, ma anche da altre cellule come le cellule muscolari lisce, gli astrociti, i fibroblasti, i cheratinociti, le cellule T, le cellule B, e le cellule NK sono capaci di sintetizzare l'IL-

1. L'attività biologica dell'IL-1 viene espressa in due forme: l'IL-1 α e l'IL-1 β .

Le sequenze dei geni dell'IL-1 α e dell'IL-1 β sono state pubblicate nel 1984,^{1,2} ed è stato determinato che entrambi i geni hanno un codice per le proteine che presenta un'omologia solo del 27% nella sequenza degli aminoacidi. Entrambe le forme sono prodotte come proteine precursori, con un peso molecolare di circa 35 kD. Diversamente dalla proIL-1 β , la proIL-1 α presenta attività biologica. La ProIL-1 α , come anche la proIL-1 β , viene proteoliticamente separata per formare proteine mature da 17 kD. Poiché le due forme mancano di una sequenza leader, la maggiore parte dell'IL-1 rimane nel citosol. Soltanto nei fagociti mononucleari, tra il 40 ed il 60% dell'IL-1 β viene rilasciato dalla cellula.

Entrambe le forme dell'IL-1, l'IL-1 α e l'IL-1 β , si legano allo stesso recettore^{3,4} sulla superficie delle loro cellule bersaglio e per questo motivo mediano azioni biologiche simili. Diversi tipi di recettori si presentano in cellule diverse. Un recettore da 80 kD, chiamato anche recettore di Tipo I o p80, è ubicato principalmente sulle cellule T, mentre il recettore di Tipo II da 60 kD si trova sulle cellule B, sui granulociti e sui monociti.

La sintesi dell'IL-1 può essere indotta da una combinazione di altre citochine, endotossine, virus, mitogeni, ed antigeni. Per contro, la prostaglandina E2 ed i corticosteroidi, le lipoproteine, i lipidi, l' α 2-macroglobulina ed un antagonista che si trova in natura, chiamato antagonista del recettore IL-1, inibiscono la sintesi dell'IL-1.

L'IL-1 media una vasto range di azioni biologiche. Stimola la produzione e la secrezione dell'IL-2 e l'espressione dei recettori dell'IL-2 da parte delle cellule "helper". L'IL-1 agisce sinergicamente con altri fattori nell'attivazione e nella differenziazione delle cellule B dalle cellule che eliminano l'immunoglobulina. Inoltre, stimola l'attivazione e la differenziazione delle cellule NK, i fibroblasti ed i timociti. L'IL-1 agisce in maniera antiproliferativa in molti tipi di cellule tumorali, aumenta la citotossicità del tumore dei macrofagi ed induce la regressione del tumore.

In sinergia con il TNF α , l'IL-1 attiva gli osteoclasti e per questo motivo esercita un ruolo importante nella regolazione del metabolismo osseo.⁵ L'IL-1 ha diversi effetti sul sistema nervoso centrale. E' un pirogeno endogeno e causa febbre nell'uomo a dosi inferiori a 1 ng/kg.⁶ Inoltre, induce la sintesi dell'ACTH, delle endorfine, della vasopressina, e della somostatina.⁷

A causa delle proprietà biologiche dell'interleuchina-1 descritte in precedenza, la misurazione di questa mediatrice è interessante per il controllo e la diagnosi delle malattie ossee, delle malattie infiammatorie, di vari tipi di cancro e di altre patologie immuni.

Principio del procedimento

IMMULITE/IMMULITE 1000 IL-1 β è un dosaggio immunometrico in chemiluminescenza in fase solida a doppio sito.

Cicli d'incubazione: 1 \times 60 minuti.

Raccolta del Campione

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

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

La centrifugazione dei campioni del 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-1 β 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: 75 µL di siero o di plasma eparinizzato . (Il porta campioni deve contenere almeno 100 µL più del volume totale richiesto).

Conservazione: 2 giorni a 2–8°C o 6 mesi a –20°C.

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Scartare in conformità alle leggi applicabili.

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.

Sottotrato chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce del sole diretta. (Vedere l'inserimento).

Acqua: Utilizzare acqua distillata o deionizzata.

Materiali Forniti

I componenti sono un gruppo accoppiato. Le etichette del codice a barre sono necessarie per la prova.

Test Unit IL-1 Beta (LL11)

Ciascuna test unit etichettata con un codice a barre contiene una sferetta coattata con un anticorpo monoclonale murinouna anti-anti- IL-1β. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

LKL1Z: 50 unit. **LKL11:** 100 unit.

Le buste delle test unit devono essere a temperatura ambientale prima di aprire. Aprire tagliando lungo il bordo superiore, lasciando intatto la chiusura ermetica. Risigillare le buste per proteggere contro umidità.

Porta Reagente IL-1 Beta (LL12)

Con codice a barre. 7,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con

un anticorpo policlonale di coniglio anti-IL-1β in un tampone, con conservanti. Conservare chiuso nel frigorifero: 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.

LKL1Z: 1 Porta Reagente.

LKL11: 2 Porta Reagenti.

Calibratori IL-1 Beta (LL1L, LL1H)

Due flaconi (Basso ed Alto), contenenti IL-1β liofila in una matrice tampone 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. Stabile a –20°C per 2 mesi dopo la ricostituzione.

LKL1Z: 1 set. **LKL11:** 1 set.

Componenti dei kit forniti separatamente

Diluente IL-1 Beta (LL1Z)

Per la diluizione manuale dei campioni. Un flacone (25 mL) contenente una matrice di siero non umana/tampone priva di IL-1β. 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: Tubi porta campioni (con codice a barre)

LSCP: Porta campioni (monouso)

LSCC: Coperchi per porta campioni (opzionali)

LILCM: Modulo di controllo bi-livello IMMULITE Citochina basato su siero umano contenente IL-1β.

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.

Controllo di Qualità: Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (alto e basso) di IL-1 Beta.

I valori attesi

Sono stati dosati campioni prelevati da un totale di 47 individui sani con il dosaggio IMMULITE IL-1 β . Tutti i campioni hanno prodotto valori inferiori a 5 pg/mL.

Considerare questi limiti soltanto come *linee guida*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire le proprie gamme 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 da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Dati sulle prestazioni

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

Range di calibrazione: fino a 1 000 pg/mL (1st IS 86/680)

Sensibilità analitica: 1,5 pg/mL

Effetto Gancio per Dosi Elevate: Nessuno fino a 100 000 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 la Tabella "Intraassay Precision").

Precisione inter-dosaggio (Da una seduta all'altra): Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 10 sedute diverse. (Vedi la Tabella "Interassay Precision").

Linearità: I campioni sono stati dosati a varie diluizioni (Vedi la tabella "Linearity" per dati rappresentativi).

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 ai quali sono state aggiunte tre soluzioni di IL-1 Beta (424, 1 058 e 1 923 pg/mL). (Vedi la Tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

Specificità: L'anticorpo è molto specifico per l'IL-1 β . (Vedi la tabella "Specificity".)

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.

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 381 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 3 000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Tipo di Campione Alternativo: I campioni ($n = 10$) sono stati prelevati in provette semplici o vacutainer eparinizzate.

(Heparin) = 1,02 (Serum) + 2,64 pg/mL
 $r = 0,996$

Valore medio:
298 pg/mL (Serum)
320 pg/mL (Heparin)

Non si consiglia l'utilizzo di campioni EDTA o plasma citrato perchè causano risultati errati.

Paragone dei metodi: La prova è stata paragonata al Comparato al Milenia IL-1 β della DPC in 38 campioni di pazienti. (Gamma di concentrazione: da 13 fino a 604 pg/mL circa. Vedere la grafica.)
Mediante regressione lineare:

(IML) = 1,1 (Milenia) + 6,4 pg/mL
r = 0,995

Valore medio:
150 pg/mL (IMMULITE)
136 pg/mL (Milenia)

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 1-Beta

Utilização: Para uso diagnóstico *in vitro* nos analisadores IMMULITE e IMMULITE 1000 — para o doseamento quantitativo de interleukina-1 β (IL-1 β) em soro ou plasma heparinizado, como auxílio na avaliação clínica de várias doenças imunológicas.

Números de catálogo:
LKL1Z (50 testes), **LKL11** (100 testes)

Código do teste: **I1B**.
Cor: **Verde água**

Sumário e explicação do teste

A Interleuquina-1 é uma citocina inflamatória, produzida principalmente por macrófagos activados e neutrófilos periféricos, mas, outras células como células do músculo liso, astrócitos, fibroblastos, queratinócitos, células T, células B e células NK são capazes também de síntese de IL-1. A actividade biológica de IL-1 é exibida de duas formas: IL-1 α e IL-1 β .

As sequências do gene de IL-1 α e IL-1 β foram publicadas em 1984,^{1,2} e foram determinados ambos os códigos dos genes para proteínas que mostram apenas uma homologia de 27% na sua sequência de aminoácidos. Ambas as formas são produzidas como proteínas precursoras, mostrando um peso molecular de cerca de 35 kD. Em contraste com o Pro IL-1 β o Pro IL-1 α , mostra a actividade biológica. O Pro IL-1 α , assim como Pro IL-1 β é criado proteoliticamente para formar as proteínas 17kD maduras. Como ambas as formas

não possuem uma sequência líder, a maioria do IL-1 permanece no citosol. Apenas em fagócitos mononucleares, entre 40 e 60% do IL-1 β é libertado da célula.

Ambas as formas de IL-1, IL-1 γ , e IL-1 β , se ligam ao mesmo receptor^{3,4} na superfície das suas células alvos, e portanto, servem de intermediário a acções biológicas semelhantes. Diferentes tipos de receptores ocorrem em diferentes células. Um receptor de 80kD, também chamado de receptor tipo 1 ou p80, está primariamente localizado nas células T, enquanto o receptor do tipo II 60 kD pode ser encontrado nas células B, granulócitos e monócitos.

A síntese de IL-1 pode ser induzida por uma combinação de outras citocinas, endotoxinas, vírus, mitógenos e antígenos. Em contraste, a prostaglandina E2 e corticosteróides, lipoproteínas, lipídios, γ 2 – macroglobulina, e um antagonista que ocorre naturalmente, chamado antagonista receptor IL-1, inibe a síntese de IL-1.

O IL-1 é intermediário numa ampla variedade de acções biológicas. Estimula a produção e secreção de IL-2 e a expressão de receptores IL-2 pelas células auxiliares. O IL-2 actua sinergicamente com outros factores na activação e diferenciação de células B com as células secretoras de imunoglobina. Além disso, estimula a activação e diferenciação de células NK, fibroblastos e timócitos. O IL-1 actua anti-proliferativamente em muitos tipos de células tumorais, aumenta a citotoxicidade do tumor de macrófagos e induz a regressão do tumor.

Em sinergia com a TNF α , o IL-1 activa osteoclastos e desempenha um papel importante na regulação do metabolismo ósseo.⁵ O IL-1 tem efeitos diferentes no sistema nervoso central. É um pirogênio endógeno e provoca febre em humanos em doses inferiores a 1g/kg.⁶ Além disso, induz a síntese de ACTH, endorfinas, vasopressin e somatostatina.⁷

Devido às propriedades biológicas de interleukin-1 descritas acima, o doseamento deste mediador é de interesse para a monitorização do diagnóstico de doenças ósseas,

inflamatórias, vários tipos de cancro e muitas outras doenças imunológicas.

Princípio do Procedimento

A IL-1 β IMMULITE/IMMULITE 1000 é um ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente de duas voltas..

Ciclos de incubação: 1 \times 60 minutos.

Colheita

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

Amostras hemolisadas podem indicar tratamento incorrecto de uma 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 IL-1 β 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: 75 μ L soro ou plasma heparinizado. (Cuvete de amostra deve conter um mínimo de 100 μ L a mais que o volume total exigido.)

Estabilidade: 2 dias a 2–8°C, ou 6 meses a –20°C.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as leis aplicáveis.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas obtidas de soro humano foram testadas, dando 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 do substrato).

Água: Use água destilada ou deionizada.

Materiais fornecidos

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

Unidades de Teste de Interleuquina 1-Beta (LL11)

Cada unidade rotulada com código de barras contém uma pérola revestida de um anticorpo monoclonal murino de anti-IL-1 β . Estável até a data de validade a 2–8°C.

LKL12: 50 unidades.

LKL11: 100 unidades.

Deixe que as saquetas de Unidade de Teste fiquem à temperatura ambiente antes de as abrir. Abra cortando pela ranhura superior, mantendo o fecho intacto. Sele novamente as saquetas para proteger contra a humidade.

Embalagem de reagentes de Interleuquina 1-Beta (LL12)

Com código de barras. Contém 7,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino bovino) conjugada com anticorpo policlonal de coelho anti- Interleuquina 1 tamponizada, 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.

LKL12: 1 embalagem.

LKL11: 2 embalagens.

Ajustes Interleuquina 1-Beta (LL1L, LL1H)

Dois frascos (nível alto e baixo) contendo IL-1 β - liofilizado numa matriz tamponizada de soro não humano, com conservante. Reconstitua cada frasco com **3,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misture com movimentos gentis e intermitentes. Aliquite e congele. Estável por 2 meses após a reconstituição a -20°C.
LKL1Z: 1 conjunto. **LKL11**: 1 conjunto.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Diluyente de Amostra de Interleuquina 1-Beta (LL1Z)

Para a diluição manual de amostras de doentes. Um frasco (25 mL) contendo uma matriz tamponizada de soro não humano sem IL-1 β . 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 de amostra (com código de barras)

LSCP: cuvetes de amostra (descartáveis)

LSCC: Tampa de cuvetes de amostra (opcional)

LILCM: Um módulo de controlo de citoquina IMMULITE IL-1 β baseado em soro humano, de dois níveis que contem IL-1 β .

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 esfera 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 1-Beta.

Valores de Referência

Amostras de um total de 47 indivíduos saudáveis foram doseadas pelo procedimento IMMULITE IL-1 β . Todas as amostras estavam abaixo de 5 pg/mL.

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

Limitações

Os anticorpos heterófilicos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoensaios 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 interacções 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 1 000 pg/mL
(1st IS 86/680)

Sensibilidade Analítica: 1,5 pg/mL

Efeito Hook de Alta Dose:
Nenhum até 100 000 pg/mL.

Precisão Intra-ensaio (Entre ensaio): 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 10 ensaios diferentes. (Ver a tabela de "Interassay Precision").

Linearidade: As amostras foram doseadas sob várias diluições. (Consulte a tabela "Linearity" para dados representativos.)

Recuperação: As amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções interleuquina 1-beta (424, 1 058 e 1 923 pg/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para IL-1 β (Ver tabela de "Specificity".)

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

Hemólise: A presença de hemoglobina em concentrações até 381 mg/dl não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipemia: A presença de lipídios em concentrações até 3 000 mg/dl não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostras alternativas: As amostras ($n = 10$) foram extraídas para tubos de contenção a vácuo heparinizados e simples.

(Heparin) = 1,02 (Serum) + 2,64 pg/mL
 $r = 0,996$

Médias:
298 pg/mL (Serum)
320 pg/mL (Heparin)

As amostras de plasma de citrato e EDTA não são recomendadas uma vez que levam a resultados incorrectos.

Comparação de métodos: O doseamento foi comparado ao Milenia IL-1 β em 38 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 13 a 604 pg/mL. Vêr gráfico.) Regressão linear:

(IML) = 1,1 (Milenia) + 6,4 pg/mL
 $r = 0,995$

Médias:
150 pg/mL (IMMULITE)
136 pg/mL (Milenia)

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

2005-04-29

PILKL1 – 9

