

IMMULITE®

IL-10

For use on the IMMULITE®
and IMMULITE® 1000 systems

DPC®

IMMULITE® / IMMULITE® 1000 IL-10

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE and IMMULITE 1000 Analyzers — for the quantitative measurement of interleukin 10 (IL-10) in serum or heparinized plasma, as an aid in the study of inflammatory diseases.

Catalog Number: **LKXPZ** (50 tests),
LKXP1 (100 tests)

Test Code: **I10** Color: **Red**

Summary and Explanation

The cytokine interleukin-10 (IL-10) was discovered in 1989. It is a 35-40 kDa protein and consists of 160 amino acids. TH0 and TH2 cells, which represent different subpopulations of T helper cells, monocytes/macrophages and B cells are capable of IL-10 synthesis.

It has been shown that IL-10 inhibits cytokine synthesis by TH1 cells. These cells secrete cytokines like interferon- γ , TNF- β and IL-2. They tend to activate macrophages and respond to the antigens presented by these cells. Furthermore, IL-10 inhibits the stimulation of TH1 cells by macrophages and monocytes. Additionally, IL-10 has numerous other effects on the monocyte/macrophage system. It suppresses the production of the so-called inflammatory cytokines IL-1 α , IL-6, IL-8 and GM-CSF, and endogenous IL-10 inhibits the synthesis of IL-10 by monocytes/macrophages in a negative feedback mechanism. Besides these inhibitory effects, IL-10 has no effect on the production of TGF- β by monocytes and stimulates the expression of IL-1RA, another anti-inflammatory protein. In contrast to the effects mentioned above, IL-10 shows immunostimulatory effects, too. In the presence of IL-3 and IL-4 it initiates the growth of mast cells and their progenitor cells. Furthermore, IL-10 drives the proliferation and differentiation of B cells into antibody-producing cells.

Due to the inhibition of the production of inflammatory cytokines and at the same time the upregulation of anti-inflammatory proteins, like IL-1RA, IL-10 may play an

important role in the regulation of a number of different diseases, including bacterial sepsis, rheumatoid arthritis and psoriasis.¹⁻⁹

Principle of the Procedure

IMMULITE/IMMULITE 1000 IL-10 is a solid-phase enzyme-labeled chemiluminescent immunometric assay.

Incubation Cycles: 1 × 60 minutes.

Specimen Collection

EDTA plasma causes a depression in apparent IL-10 concentrations and is not recommended as a sample type for IL-10 determination.

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

Lipemic, hemolyzed or grossly contaminated samples may give erroneous results.

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-10 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: 100 μ L serum or heparinized plasma. (Sample cup must contain at least 250 μ L more than the total volume required.)

Storage: 6 hours at 2–8°C or up to 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.

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-10 Test Units (LXP1)

Each barcode-labeled unit contains one bead coated with a murine monoclonal anti-IL-10 antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.

LKXPZ: 50 units. **LKXP1:** 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-10 Reagent Wedge (LXP2)

With barcode. 7.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to a murine monoclonal anti-IL-10 antibody in buffer. Store capped and refrigerated: stable at 2–8°C until expiration date. Recommended usage is within 30 days after opening when stored as indicated.

LKXPZ: 1 wedge. **LKXP1:** 1 wedge.

IL-10 Adjustors (LXPL, LXPH)

Two vials (Low and High) of lyophilized IL-10 in a nonhuman serum matrix. Reconstitute each vial with **4.0 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.

LKXPZ: 1 set. **LKXP1:** 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)

LXPCM: IMMULITE IL-10 Control Module (Bi-level, synthetic matrix control).

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

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

The sample cup must contain at least 250 µL more than the total volume required. Each sample cup holder can be followed by up to four test units.

Recommended Adjustment Interval: 2 weeks.

Quality Control Samples: Use controls or sample pools with at least two levels (low and high) of IL-10.

Expected Values

A reference range study performed on 55 apparently healthy adults yielded a median of 1.5 pg/mL and a 95th percentile of 9.1 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 1,000 pg/mL

Analytical Sensitivity: 1 pg/mL

High-dose Hook Effect:

None up to 102,300 pg/mL

Precision: Samples were assayed in duplicate over the course of 20 days, two runs per day, for a total of 40 runs and 80 replicates. (See "Precision" table.)

Specificity: The assay is highly specific for IL-10 (see "Specificity" table).

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

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three IL-10 solutions (550, 5,500 and 11,000 pg/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

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

Hemolysis: Grossly hemolyzed samples may show slight elevations in apparent

IL-10 concentration. (See "Hemolysis" table).

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 2,000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay. Higher concentrations may cause a depression in apparent IL-10 concentration. (See "Lipemia" table).

Method Comparison 1: The IMMULITE IL-10 procedure was compared to a commercially available assay for IL-10 (Kit A) on 167 patient samples. (Concentration range: approximately 5 to 300 pg/mL. See graph 1.) By linear regression:

(IML) = 2.12 (Kit A) + 0.4 pg/mL
r = 0.988

Means:
61 pg/mL (IMMULITE)
29 pg/mL (Kit A)

Method Comparison 2: The calibration material used to construct the IMMULITE IL-10 master curves was compared to the IL-10 WHO reference material (WHO 93/722). (See graph 2.) By linear regression:

(IML Calibration) = 0.86 (WHO 93/722) + 0.7 pg/mL
r = 1.00

Means:
198 pg/mL (IMMULITE Calibration)
229 pg/mL (WHO 93/722)

Alternate Sample Type: Samples (*n* = 26) were collected into plain, heparinized, EDTA and SST[®] vacutainer tubes. Matched samples were supplemented with IL-10 and then assayed by the IMMULITE IL-10 procedure. By linear regression:

(Heparin) = 1.02 (Serum) + 2.2 pg/mL
r = 0.998

(EDTA) = 0.49 (Serum) – 8.1 pg/mL
r = 0.982

(SST) = 0.94 (Serum) – 1.2 pg/mL
r = 0.999

Means:
279 pg/mL (Plain Serum)
286 pg/mL (Heparin)
128 pg/mL (EDTA)
260 pg/mL (SST)

EDTA plasma is not recommended as a sample type in the IMMULITE IL-10 assay.

References

1) Dummer W, Becker JC, Schwaaf A,

Leverkus, M, Moll T, Brcker EB. Elevated serum levels of interleukin-10 in patients with metastatic malignant melanoma. Short Communication: Melanoma Res 1995;5:67-8. 2) Belardelli F. Role of interferons and other cytokines in the regulation of the immune response. APMIS 1995; 103:161-79. 3) Doherty TM. T-cell regulation of macrophage function. Curr Opin Immunol 1995;7:400-4. 4) Gomez-Jimenez J, Martin MC, Sauri R, et al. Interleukin-10 and the monocyte/macrophage-induced inflammatory response in septic shock. J Infect Dis 1995;171:472-5. 5) Stasi R, Zinzani L, Galieni P, et al. Clinical implications of cytokine and soluble receptor measurements in patients with newly-diagnosed aggressive non-Hodgkin's lymphoma. Eur J Haematol 1995;54:9-17. 6) Cush JJ, Splawski JB, Thomas R, et al. Elevated interleukin-10 levels in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1995;38:96-104. 7) Ohmen JD, Hanifin JM, Nickloff BJ, et al. Overexpression of IL-10 in atopic dermatitis. Contrasting cytokine patterns with delayed-type hypersensitivity reactions. J Immunol 1995;154:1956-63. 8) Krams SM, Cao S, Hayashi M, et al. Elevations in IFN-g, IL-5, and IL-10 in patients with the autoimmune disease primary biliary cirrhosis: association with autoantibodies and soluble CD30. Clin Immunol Immunopathol 1996;80:311-20. 9) Kim DS, Lee HK, Noh GW, et al. Increased serum interleukin-10 level in Kawasaki disease. Yonsei Med J 1996;37:125-30. 10) 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

Precision (pg/mL)

	Mean ³	Within-Run ¹			Total ²	
		SD ⁴	CV ⁵	SD	CV	
1	18.2	0.52	2.9%	1.8	9.9%	
2	46.0	1.4	3.0%	2.2	4.8%	
3	177	6.1	3.4%	8.0	4.5%	
4	258	8.0	3.1%	12	4.7%	
5	358	10	2.8%	17	4.7%	
6	617	19	3.1%	26	4.2%	

Linearity (pg/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	8 in 8 ⁵	145	—	—
	4 in 8	69.4	72.5	96%
	2 in 8	36.0	36.3	99%
	1 in 8	17.3	18.1	96%
2	8 in 8	275	—	—
	4 in 8	141	138	102%
	2 in 8	73.5	68.8	107%
	1 in 8	39.1	34.4	114%
3	8 in 8	455	—	—
	4 in 8	233	228	102%
	2 in 8	116	114	102%
	1 in 8	57.0	56.9	100%
4	8 in 8	648	—	—
	4 in 8	316	324	98%
	2 in 8	161	162	99%
	1 in 8	83.8	81.0	103%
5	8 in 8	900	—	—
	4 in 8	439	450	98%
	2 in 8	232	225	103%
	1 in 8	118	113	104%

Recovery (pg/mL)

Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	ND	—
A	30.3	27.5	110%
B	276	275	100%
C	534	550	97%
2	—	27.9	—
A	55.2	54.0	102%
B	306	302	101%
C	637	577	110%
3	—	188	—
A	213	206	103%
B	426	454	94%
C	690	729	95%
4	—	339	—
A	353	350	101%
B	581	597	97%
C	819	872	94%

ND: not detectable⁵

Specificity

Compound ¹	pg/mL Added ²	Apparent pg/mL ³	% Cross-reactivity ⁴
IL-1 α	10,000	ND	ND
IL-1 β	10,000	ND	ND
IL-2	10,000	ND	ND
IL-4	10,000	ND	ND
IL-6	10,000	ND	ND
IL-8	10,000	ND	ND
H-IFN γ	10,000	ND	ND
TNF α	10,000	ND	ND

ND: not detectable.⁵

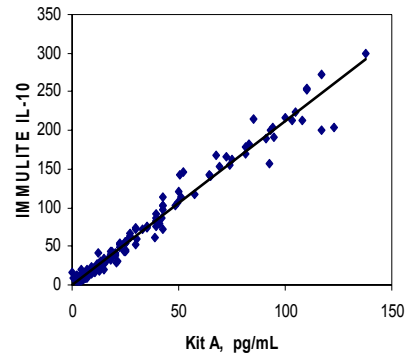
Hemolysis

	Hemoglobin Added ¹			
	Unspiked ²	157 mg/dL	314 mg/dL	550 mg/dL
1	20.1	22.2	23.5	24.2
2	47.9	50.5	51.4	51.8
3	189	193	195	198
4	357	387	378	382
5	634	703	713	691

Lipemia

	Triglycerides Added mg/dL ¹			
	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴	
1	—	20.1	—	—
	500	20.3	19.6	104%
	1,000	18.6	19.1	97%
	2,000	17.6	18.1	97%
	3,000	16.1	17.1	94%
2	—	47.9	—	—
	500	46.0	46.7	99%
	1,000	41.8	45.5	92%
	2,000	38.8	43.1	90%
	3,000	35.6	40.7	87%
3	—	189	—	—
	500	179	184	97%
	1,000	174	180	97%
	2,000	144	170	85%
	3,000	142	161	88%
4	—	357	—	—
	500	343	348	99%
	1,000	340	339	100%
	2,000	300	321	93%
	3,000	293	304	96%
5	—	634	—	—
	500	612	618	99%
	1,000	572	602	95%
	2,000	555	571	97%
	3,000	487	539	90%

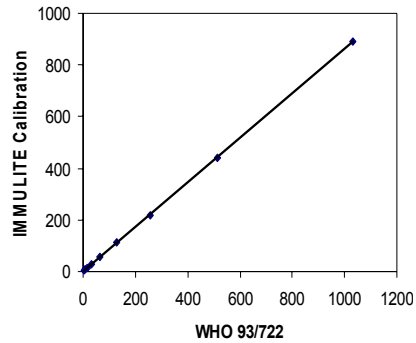
Method Comparison 1:



$$(IML) = 2.12 (\text{Kit A}) + 0.4 \text{ pg/mL}$$

$$r = 0.988$$

Method Comparison 2:



(IML Calibration) = 0.86 (WHO 93/722) + 0.7 pg/mL
r = 1.00

Deutsch. Precision: ¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴S (Standardabweichung), ⁵CV (Variationskoeffizient). **Linearität:** ¹Verdünnung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵8 in 8. **Wiederfindung:** ¹Lösung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵NN: Nicht nachweisbar. **Spezifität:** ¹Verbindung, ²zugesezte Menge, ³Gemessene Konzentration, ⁴% Kreuzreaktivität, ⁵NN: Nicht nachweisbar. **Hämolyse:** zugeseztes Hämoglobin, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵Ohne Zugabe von. **Lipämie:** ¹zugesezte Triglyceride, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E.

Español. Precision: ¹Intraensayo, ²Total, ³Media, ⁴DS, ⁵CV. **Linearity:** ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 en 8. **Recovery:** ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵ND: no detectable. **Specificity:** ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³Concentración aparente, ⁴% Reacción cruzada, ⁵ND: no detectable. **Hemolysis:** Hemoglobina Añadida, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵Sin añadir. **Lipemia:** ¹Triglicéridos Añadidos, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E.

Français. Precision: ¹Intraessai, ²Total, ³Moyenne, ⁴SD, ⁵CV. **Linearity:** ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A, ⁵8 dans 8. **Recovery:** ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A, ⁵ND: non détectable. **Specificity:** ¹Composé, ²ajouté, ³Concentration apparente, ⁴Réaction croisée %. ⁵ND: non détectable. **Hemolysis:** ¹Hémoglobine ajoutée, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A, ⁵Non chargés. **Lipemia:** ¹Triglycérides ajoutés, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A.

Italiano. Precision: ¹Intra-serie, ²Totale, ³Media, ⁴SD (Deviazione Standard), ⁵CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity:** ¹Diluizione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A, ⁵8 in 8. **Recovery:** ¹Soluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A, ⁵ND: non determinabile. **Specificity:** ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Concentrazione

apparente, ⁴Percentuale di Crossreattività, ⁵ND: non determinabile. **Hemolysis:** ¹Emoglobina Aggiunta, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A, ⁵Semplice. **Lipemia:** ¹Trigliceridi Aggiunti, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A.

Português. Precision: ¹Entre-ensaios, ²Total, ³Média, ⁴Desvio padrão, ⁵Coefficiente de variação. **Linearity:** ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 em 8. **Recovery:** ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵ND: não detectável. **Specificity:** ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Apparent Concentration, ⁴Porcentagem de reação cruzada, ⁵ND: não detectável. **Hemolysis:** ¹Hemoglobina Adicionados, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵Não adicionada. **Lipemia:** ¹Triglicéridos Adicionados, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E.

Deutsch

IMMULITE IL-10

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE und IMMULITE 1000 Systeme – zur quantitativen Messung von Interleukin 10 (IL-10) in Serum oder Heparin-Plasma, als Hilfsmittel in der Untersuchung von entzündlichen Erkrankungen.

Artikelnummern: **LKXPZ** (50 Tests),
LKXP1 (100 Tests)

Testcode: **I10** Farbe: **rot**

Klinische Relevanz

Das Zytokin Interleukin-10 (IL-10) wurde 1989 entdeckt. Es ist ein 35-40 kDa Protein und besteht aus 160 Aminosäuren. TH0 und TH2 Zellen, Subpopulationen der T-Helfer Zellen, Monozyten/Makrophagen und B-Zellen können IL-10 synthetisieren.

Es konnte gezeigt werden dass IL-10 die Zytokin-Synthese durch TH1 Zellen hemmt. Diese Zellen produzieren Zytokine wie z.B. Interferon-gamma, TNF-β und IL-2. Diese aktivieren Makrophagen und reagieren auf die Antigene, die von diesen Zellen präsentiert werden. Weiterhin hemmt IL-10 die Stimulation der TH1-Zellen durch Makrophagen und Monozyten. Zusätzlich hat IL-10 verschiedene andere Effekte auf das Monozyten/Makrophagen System. Es unterdrückt die Produktion der

sogenannten inflammatorischen Zytokine IL-1-alpha, IL-6, IL-8 und GM-CSF. Das endogene IL-10 hemmt wiederum die Synthese des IL-10 durch Monozyten/Makrophagen über einen negativen Feedback Mechanismus. Neben diesen Hemmeffekten hat IL-10 keinen Effekt auf die Produktion des TGF- β durch Monozyten, stimuliert aber die Expression des IL-1RA, ein weiteres antiinflammatorisches Protein. Im Gegensatz zu den oben erwähnten Effekten zeigt das IL-10 auch immunstimulatorische Wirkungen. Im Beisein von IL-3 und IL-4 initiiert es das Wachstum von Mastzellen und ihrer Progenitorzellen. IL-10 befördert die Proliferation und Differenzierung der B-Zellen in Antikörper-produzierende Zellen.

Auf Grund der Hemmung der Produktion von proinflammatorischen Zytokinen und der gleichzeitigen Hochregulierung antiinflammatorischer Proteine wie z.B. IL-1RA, könnte dem IL-10 eine bedeutende Rolle in einer ganzen Reihe von Erkrankungen wie bakterieller Sepsis, Rheumatoider Arthritis und Psoriasis zukommen.¹⁻⁹

Methodik

Der IMMULITE/IMMULITE 1000 IL-10 Assay ist ein enzymmarkierter immunometrischer Festphasen-Chemilumineszenz-Assay.

Inkubationszyklen: 2 × 30 min.

Probengewinnung

EDTA-Plasma kann zu einer Erniedrigung der Werte führen und wird daher als Probenart zur Bestimmung von IL-10 nicht empfohlen.

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

Lipämische, hämolytische oder stark kontaminierte Proben können zu fehlerhaften Resultaten führen.

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-10 sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 100 μ l Serum oder Heparin-Plasma. (Inhalt des Probenträgers muss mindestens 250 μ l über der erforderlichen Gesamtmenge liegen).

Lagerung: 6 Stunden bei 2–8°C oder bis zu 6 Monaten bei –20°C.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur **In-vitro**-Diagnostik.

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Die Entsorgung muss nach den jeweils gültigen Gesetzen erfolgen.

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.

Chemilumineszenz-Substrat:

Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden. Siehe Packungsbeilage.

Wasser: Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser benutzen.

Im Lieferumfang enthalten

Die Komponenten sind aufeinander abgestimmt. Die Barcode-Etiketten werden für den Assay benötigt.

IL-10 Testeinheiten (LXP1)

Jede mit Barcode-Etikette versehene Einheit enthält eine Polystyrol-Kugel beschichtet mit Anti-IL-10-Antikörpern (monoklonal, Maus). Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.

LKXPZ: 50 Testeinheiten.

LKXP1: 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-10 Reagenzbehälter (LXP2)

Barcodiert. 7,5 ml alkalische Phosphatase konjugiert mit Anti-IL-10-Antikörpern (monoklonal, Maus) in Puffer.

Verschluss und gekühlt aufbewahren: Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar. Bei entsprechender Lagerung beträgt die empfohlene Verbrauchsfrist nach dem Öffnen 30 Tage.

LKXPZ: 1 Behälter. **LKXP1:** 1 Behälter.

IL-10 Kalibratoren (LXPL, LXPH)

Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit lyophilisiertem IL-10 in einer nicht-humanen Serummatrix. Jedes Fläschchen mit **4,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Vorsichtig durchmischen. Unbenutztes Material innerhalb von 3 Stunden nach Rekonstitution aliquotieren und einfrieren (–20°C). Nach Rekonstituierung 6 Monate bei –20°C haltbar.

LKXPZ: 1 Set. **LKXP1:** 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)

LXPCM: IMMULITE IL-10 Kontrollmodul (Zwei Konzentrationen, synthetische Matrix-Kontrolle).

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.

Inhalt des Probenträgers muss mindestens 250 µl über der erforderlichen Gesamtmenge liegen. Hinter jedem Probenträger können bis zu 4 Testeinheiten nachfolgen.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen.

Qualitätskontrollseren: Kontrollen oder Poolseren mit IL-10 in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Referenzwerte

Eine Referenzwert-Studie mit 55 gesunden Erwachsenen erzielte einen Medianwert von 1,5 pg/ml und eine 95%-Perzentile von 9,1 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. (wenn nicht anders angegeben, wurde alle Serumproben in Röhrchen ohne Antikoagulanzen, ohne Gelbarrieren und ohne Gerinnungsfördernde Zusätze gesammelt).

Messbereich: bis 1 000 pg/ml

Analytische Sensitivität: 1 pg/ml

High-Dose-Hook-Effect:
keiner bis 102 300 pg/ml

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen). (Siehe Tabelle „Precision“.)

Spezifität: Der Assay ist hochspezifisch für IL-10 (Siehe Tabelle "Specificity").

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

Wiederfindung: Proben, mit einer 1:19 Verdünnung aus drei verschiedenen IL-10-Lösungen (550, 5 500 und 11 000 pg/ml) versetzt, wurden mit dem IMMULITE IL-10 gemessen. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

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

Hämolyse: Stark hämolysierte Proben können zu einer leichten Erhöhung der IL-10 Konzentrationen führen (Siehe Tabelle "Hemolysis").

Lipämie: Triglycerid hat in Konzentrationen bis zu 2 000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist. Höhere Konzentrationen können zu einer Erniedrigung der IL-10 Konzentration führen (Siehe Tabelle "Lipemia").

Methodenvergleich 1: Die IMMULITE IL-10 Methode wurde mit einem kommerziell verfügbaren Assay (Kit A) zur IL-10 Bestimmung in 167 Patientenproben verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 5 – 300 pg/ml. Siehe Grafik 1.) Durch lineare Regression:

(IML) = 2,12 (Kit A) + 0,4 pg/ml
r = 0,988

Mittelwerte:
61 pg/ml (IMMULITE)
29 pg/ml (Kit A)

Methodenvergleich 2: Das zur Erstellung der IMMULITE IL-10 Masterkurve verwendete Standardmaterial wurde mit dem IL-10 WHO Referenzmaterial (WHO 93/722) verglichen. (Siehe Grafik 2.) Durch lineare Regression:

(IML Kalibration) =
0,86 (WHO 93/722) + 0,7 pg/ml
r = 1,00

Mittelwerte:
198 pg/ml (IMMULITE Kalibration)
229 pg/ml (WHO 93/722)

Alternative Probenarten: Proben (n=26) wurden in flachbödigen, heparinisierten EDTA und SST Vacutainer-Röhrchen gesammelt. Passende Proben wurden mit IL-10 versetzt und dann im IMMULITE IL-10 Assay gemessen. Durch lineare Regression:

(Heparin) = 1,02 (Serum) + 2,2 pg/ml
r = 0,998

(EDTA) = 0,49 (Serum) – 8,1 pg/ml
r = 0,982

(SST) = 0,94 (Serum) – 1,2 pg/ml
r = 0,999

Mittelwerte:
279 pg/ml (Serum)
286 pg/ml (Heparin)
128 pg/ml (EDTA)
260 pg/ml (SST)

EDTA-Plasma wird als Probenart für den IL-10 Assay nicht empfohlen.

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-10

Utilidad del análisis: Para uso diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE e IMMULITE 1000 — para la medición cuantitativa de interleuquina 10 (IL-10) en suero o plasma heparinizado, como ayuda en el estudio de enfermedades inflamatorias.

Referencia: **LKXPZ** (50 tests), **LKXP1** (100 tests)

Código del Test: **110**
Código de Color: **Rojo**

Resumen y Explicación del Test

La citoquina interleuquina-10 (IL-10) fue descubierta en 1989. Es una proteína de 35–40 kDa y está formada por 160 aminoácidos. Las células TH0 y TH2, que representan subpoblaciones distintas de células T helper, monocitos/macrófagos y células B cells son capaces de sintetizar IL-10.

Se ha demostrado que la IL-10 inhibe la síntesis de citoquinas por parte de las células TH1. Estas células liberan citoquinas como interferon- γ , TNF- β e IL-2. Estas tienden a activar los macrófagos y responder a los antígenos presentados por estas células. Más aún, IL-10 inhibe la estimulación de las células TH1 por parte de macrófagos y monocitos. Adicionalmente, la IL-10 tiene otros muchos efectos en el sistema monocito/macrófago. Suprime la producción de las citoquinas llamadas inflamatorias IL-1 α , IL-6, IL-8 y GM-CSF, y la IL-10 endógena inhibe la síntesis de IL-10 por parte de monocitos/macrófagos mediante un mecanismo feedback negativo. Además de estos efectos

inhibitorios, la IL-10 no tiene efecto en la producción de TGF- β por parte de monolitos y estimula la expresión de IL-1RA, otra proteína anti-inflamatoria. En contra de los efectos mencionados hasta ahora, la IL-10 muestra también efectos inmunoestimulantes. En presencia de IL-3 e IL-4, inicia el crecimiento de mastocitos y sus células precursoras. Más aún, la IL-10 dirige la proliferación y diferenciación de las células B en células productoras de anticuerpos.

Debido al efecto inhibitorio de la producción de citoquinas de la inflamación y a la regulación simultánea de proteínas anti-inflamatorias, como IL-1RA, la IL-10 puede tener un papel importante en la regulación de un cierto número de enfermedades diferentes, que incluyen sepsis bacteriana, artritis reumatoide y psoriasis.¹⁻⁹

Principio del análisis

IMMULITE/IMMULITE 1000 IL-10 es un ensayo inmunométrico quimioluminiscente marcado enzimáticamente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 60 minutos.

Recogida de la muestra

El Plasma EDTA provoca una disminución aparente en la concentración de IL-10 y no se recomienda por tanto como tipo de muestra para la determinación de IL-10.

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

Las muestras lipémicas, hemolizadas o ampliamente contaminadas pueden dar resultados erróneos.

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-10 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 Alternativos.

Volumen requerido: 100 µl suero o plasma heparinizado. (La copa de muestras debe contener al menos 250 µl más que el volumen total necesario.)

Conservación: 6 horas a 2–8°C o hasta 6 meses a –20°C

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo a la legislación en vigor.

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.

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

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas de código de barras son necesarias para el ensayo.

IL-10 Unidades de análisis de (LXP1)

Con código de barras. Cada una contiene una bola recubierta con anticuerpo monoclonal de ratón anti-IL-10. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

LKXPZ: 50 unidades.

LKXP1: 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.

IL-10 Vial de Reactivo (LXP2)

Con código de barras. 7,5 ml de fosfatasa alcalina (intestino bovino calf) conjugada a anticuerpo monoclonal de ratón anti-IL-10 en solución tampón. 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.

LKXPZ: 1 vial. **LKXP1:** 1 vial.

IL-10 Ajustadores (LXPL, LXPH)

Dos viales (Bajo y Alto) de IL-10 liofilizada en suero matriz no humano. Reconstituir cada vial con **4,0 ml** de agua destilada o desionizada. Mezclar mediante agitación suave e intermitente. Alicuotar y congelar cualquier material no usado a –20°C antes de 3 horas tras la reconstitución. Estable a –20°C durante 6 meses tras su reconstitución.

LKXPZ: 1 set. **LKXP1:** 1 set.

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 del 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)

LXPCM: IMMULITE IL-10 Módulo Control (Dos niveles de control en matriz sintética).

También necesarios

Pipettes de transfert à échantillon ; eau distillée ou désionisée ; Contrôle.

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

El recipiente de la muestra debe contener, como mínimo, 250 µl más que el volumen total requerido. Cada soporte de recipientes de muestras puede acompañarse de cuatro unidades de reacción como máximo.

Intervalo de ajuste recomendado: 2 semanas.

Muestras de Control de Calidad: Use controles o pools de muestras con al menos dos niveles (bajo y alto) de IL-10.

Valores esperados

Se realizó un estudio del Rango de Referencia con 55 adultos aparentemente sanos, con el que se obtuvo una media de 1,5 pg/ml y un percentil 95 de 9,1 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 especifique otra cosa, todos fueron obtenidos de muestras séricas recogidas en tubos sin anticoagulantes, barreras de gel o aditivos promotores de coágulos.)

Intervalo de calibración: Hasta 1 000 pg/ml

Sensibilidad analítica: 1 pg/ml

Efecto de gancho a altas dosis: Ninguno hasta 102 300 pg/ml

Precisión: Las muestras fueron procesadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Véase la tabla "Precision".)

Especificidad: El ensayo es altamente específico para IL-10 (ver Tabla "Specificity").

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

Recuperación: Se ensayaron muestras de 1 a 19 sobrecargadas con tres soluciones de IL-10 (550, 5 500 y 11 000 pg/ml). (Ver la tabla "Recovery" para resultados representativos).

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina conjugada y libre en concentraciones hasta 200 mg/l no tiene efecto en el ensayo, en lo concerniente a la precisión del ensayo.

Hemólisis: Las muestras muy hemolizadas pueden mostrar ligeros aumentos en la concentración aparente de IL-10. (Ver la tabla "Hemolysis").

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 2 000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo. Concentraciones mayores pueden provocar una disminución en la concentración aparente de IL-10. (Ver tabla "Lipemia").

Método Comparativo 1: El ensayo IMMULITE IL-10 se comparó con un

ensayo para IL-10 disponible comercialmente (Kit A) con muestras de 167 pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente de 5 a 300 pg/ml. Ver Gráfica 1.) Por regresión lineal:

(IML) = 2,12 (Kit A) + 0,4 pg/ml
r = 0,988

Medias:
61 pg/ml (IMMULITE)
29 pg/ml (Kit A)

Método Comparativo 2: El material de calibración usado en la fabricación de la curva master del ensayo IMMULITE IL-10 se comparó con el material de referencia de la OMS de IL-10 (WHO 93/722). (Ver Gráfica 2.) Por regresión lineal:

(IML Calibración) =
0,86 (WHO 93/722) + 0,7 pg/ml
r = 1,00

Medias:
198 pg/ml (IMMULITE Calibración)
229 pg/ml (WHO 93/722)

Tipo de Muestra Alternativa: Se recogieron muestras ($n = 26$) en tubos simples, con heparina, EDTA y SST®. Las muestras fueron suplementadas con IL-10 y ensayadas posteriormente con el método IMMULITE IL-10. Por regresión lineal:

(Heparina) = 1,02 (Suero) + 2,2 pg/ml
r = 0,998

(EDTA) = 0,49 (Suero) – 8,1 pg/ml
r = 0,982

(SST) = 0,94 (Suero) – 1,2 pg/ml
r = 0,999

Medias:
279 pg/ml (Suero)
286 pg/ml (Heparina)
128 pg/ml (EDTA)
260 pg/ml (SST)

Plasma EDTA no es recomendable como tipo de muestra en el ensayo IMMULITE IL-10.

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

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

Français

IMMULITE IL-10

Domaine d'utilisation: Réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec les analyseurs IMMULITE et IMMULITE 1000 – pour la mesure quantitative quantitative de l'interleukine 10 (IL-10) dans le sérum et le plasma hépariné. Il constitue une aide dans l'étude des maladies inflammatoires.

Référence catalogue : **LKXPZ** (50 tests), **LKXP1** (100 tests)

Code produit : **I10** Code couleur : **rouge**

Introduction

L'interleukine 10 (IL-10) a été découverte en 1989. C'est une protéine de 35 à 40 kDa constituée de 160 acides aminés. Les cellules TH0 et TH2, qui représentent différentes sous-populations de cellules T helper, monocytes/macrophages et cellules B synthétise l'IL-10.

Il a été démontré que l'IL-10 inhibe la synthèse de cytokines par les cellules TH1. Les cellules sécrètent des cytokines comme l'interféron- γ , le TNF- β et l'IL-2. Elles activent les macrophages et répondent aux antigènes présentés par ces cellules. De plus, l'IL-10 inhibe la stimulation des cellules TH1 par les macrophages et les monocytes. L'IL-10 a aussi beaucoup d'autres effets sur le système monocytes/macrophages. Elle réduit la production des cytokines aussi appelées IL-1 α , IL-6, IL-8 et GM-CSF, et l'IL-10 endogène inhibe la synthèse d'IL-10 par les monocytes/macrophages par un mécanisme de feed-back négatif. A côté de ces effets d'inhibition, l'IL-10 n'a pas d'effet sur la production de TGF- β par les monocytes et stimule l'expression de l'IL-1RA, une autre protéine inflammatoire. Par contraste avec les effets mentionnés plus haut, l'IL-10 a également des effets stimulants. En présence d'IL-3 et IL-4, il initie la croissance des mastocytes et de leurs cellules progénitrices. De plus, l'IL-10 mène à la prolifération et à la différenciation de cellules B en cellules productrices d'anticorps.

Du fait de l'inhibition de la production de cytokines inflammatoires et, en même

temps la surproduction des protéines anti-inflammatoires telles que IL-1RA, l'IL-10 peut jouer un rôle important dans la régulation de nombreuses maladies différentes, incluant la sepsis bactérien, la polyarthrite rhumatoïde et le psoriasis.¹⁻⁹

Principe du test

IMMULITE/IMMULITE 1000 IL-10 est un dosage enzymatique chimiluminescent immunométrique en phase solide.

Cycles d'incubation : 1 × 60 minutes.

Recueil des échantillons

Le plasma EDTA entraîne une baisse des concentrations en IL-10 apparent et son utilisation en tant que type d'échantillon n'est pas recommandé pour la détermination des taux en IL-10.

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

Des échantillons lipémiques, hémolysés ou fortement contaminés pourront donner des résultats erronés.

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-10 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 : 100 µl de sérum ou de plasma hépariné. (L'unité échantillon doit contenir au moins 250 µl de plus que le volume total requis.)

Conservation: 6 heures à +2–8°C ou jusqu'à 6 mois 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 aux lois 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.

Substrat chimiluminescent : Éviter toute contamination et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser de l'eau distillée ou désionisée.

Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à code-barre sont nécessaires au dosage.

Tests unitaires IL-10 (LXP1)

Chaque unité à code-barre contient une bille revêtue d'un anticorps monoclonal murin anti-IL-10. Stable à +2/ +8 °C jusqu'à la date de péremption.

LKXPZ: 50 unités. **LKXP1**: 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 IL-10 (LXP2)

Avec code-barre. 7,5 ml d'anticorps monoclonal murin anti-IL-10 conjugué à de la phosphatase alcaline (intestins de veaux) dans un tampon. 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.

LKXPZ: 1 cartouche. **LKXP1**: 1 cartouche.

Ajusteurs IL-10 (LXPL, LXPH)
Deux flacons (Bas et Haut) d'IL-10 lyophilisée dans une matrice sérique non humaine. Reconstituer chaque flacon avec **4,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger par légères et intermittentes rotations. Aliquoter et congeler tout matériel non utilisé à -20°C dans les 3 heures suivant le reconstitution. Stable à -20°C pendant 6 mois après reconstitution.

LKXPZ: 1 jeu. **LKXP1**: 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°C .

LSUBX : Substrat chimiluminescent

LPWS2 : 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)

LXPCM: Contrôle IMMULITE IL-10 (à deux niveaux, matrice synthétique de contrôle)

Egalement requis

Egalement nécessaire :

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.

La cupule à réaction doit contenir au moins 250 μl de plus que le volume total nécessaire. Chaque unité-échantillon peut être suivie par jusqu'à quatre unités-tests.

Intervalle d'ajustement recommandé : 2 semaines.

Echantillons pour le contrôle de

Qualité: Utiliser des pools de contrôles ou d'échantillons avec au moins deux niveaux (bas et haut) d' IL-10.

Valeurs de référence

Une étude des valeurs de référence sur 55 adultes en bonne santé apparente a donné une médiane de 1,5 pg/ml et un 95ème percentile de 9,1 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 rares 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 de ce test. Les résultats sont donnés en pg/ml. (Sauf précision contraire, tous ont été obtenus à partir d'échantillons sériques prélevés sur tubes

sans anticoagulant, gel, ou activateur de la coagulation.)

Domaine de mesure : jusqu'à 1 000 pg/ml

Sensibilité analytique : 1 pg/ml

Effet crochet aux doses élevées : aucun jusqu'à 102 300 pg/ml

Précision : les échantillons sont dosés en duplicata sur une période qui s'étend sur 20 jours, avec deux séries par jours, soit 40 séries et 80 replicata au total. (Voir le tableau " Precision ".)

Spécificité : Le dosage est hautement spécifique de l'IL-10 (voir le tableau " Specificity ").

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

Test de récupération : Des échantillons chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions d'IL-10 (550, 5 500 et 11 000 pg/ml) ont été dosés. (Voir le tableau " Recovery " pour des données représentatives.)

Bilirubine : La présence de bilirubine, conjuguée ou non, n'a aucun effet sur le dosage ni sur sa précision si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Hémolyse : Les échantillons hémolysés peuvent montrer une légère élévation en concentration d'IL-10 apparente. (voir le tableau " Hemolysis ").

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 2 000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats. Des concentrations plus élevées peuvent entraîner une diminution en concentration d'IL-10 apparente. (voir le tableau " Lipemia ").

Comparaison de méthodes 1: La procédure IMMULITE IL-10 a été comparée à un autre dosage de l'IL-10 disponible sur le marché (kit A) sur 167 échantillons de patients (intervalle de concentrations : environ de 5 à 300 pg/ml. Voir le graphique 1.) Par régression linéaire :

(IML) = 2,12 (Kit A) + 0,4 pg/ml
r = 0,988

Moyennes :
61 pg/ml (IMMULITE)
29 pg/ml (Kit A)

Comparaison de méthodes 2: Le matériel de calibration utilisé pour construire la courbe maîtresse du dosage IMMULITE IL-10 a été comparé au matériel de référence IL-10 de l'OMS (WHO 93/722). (voir graphique 2.) Par régression linéaire :

(IML Calibration) =
0,86 (WHO 93/722) + 0,7 pg/ml
r = 1,00

Moyennes :
198 pg/ml (IMMULITE Calibration)
229 pg/ml (WHO 93/722)

Autres types d'échantillons: Des échantillons ($n = 26$) ont été prélevés sur tubes secs, héparinés, EDTA et sur tubes vacutainers SST®. Ces différents échantillons ont été surchargés avec de l'IL-10 et ensuite dosés avec la procédure IMMULITE IL-10. Par régression linéaire :

(Héparine) = 1,02 (Sérum) + 2,2 pg/ml
r = 0,998

(EDTA) = 0,49 (Sérum) – 8,1 pg/ml
r = 0,982

(SST) = 0,94 (Sérum) – 1,2 pg/ml
r = 0,999

Moyennes :
279 pg/ml (Sérum)
286 pg/ml (Héparine)
128 pg/ml (EDTA)
260 pg/ml (SST)

Le plasma EDTA n'est pas recommandé comme type d'échantillon avec le dosage IMMULITE IL-10.

Assistance technique

Contactez votre distributeur national. 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-10

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con gli Analizzatori IMMULITE ed IMMULITE 1000 — per la misurazione quantitativa della Interleuchina 10 (IL-10) nel siero o nel plasma eparinizzato quale ausilio nello studio delle patologie infiammatorie.

Codice: **LKXPZ** (50 test),
LKXP1 (100 test)

Codice del Test: **I10** Colore: **Rosso**

RIASSUNTO E SPIEGAZIONE DEL TEST

La citochina interleuchina-10 (IL-10) è stata scoperta nel 1989. È una proteina da 35–40 kDa composta da 160 amminoacidi. Le cellule TH0 e TH2 che rappresentano diverse sottopopolazioni di cellule T helper, monociti/macrofagi e cellule B, sono in grado di sintetizzare l'IL-10.

È stato dimostrato che l'IL-10 inibisce la sintesi della citochina attraverso le cellule TH1. Queste cellule secernono citochine come l'interferone- γ , il TNF- β e l'IL-2. Tendono ad attivare i macrofagi ed a rispondere agli antigeni rappresentati da queste cellule. Inoltre, l'IL-10 inibisce la stimolazione delle cellule TH1 attraverso i macrofagi ed i monociti. Inoltre, l'IL-10 ha numerosi altri effetti sul sistema monociti/macrofagi. Sopprime la produzione delle cosiddette citochine infiammatorie IL-1 α , IL-6, IL-8 e GM-CSF, e l'IL-10 endogena inibisce la sintesi dell'IL-10 attraverso i monociti/macrofagi in un meccanismo di feedback negativo. Oltre a questi effetti inibitori, l'IL-10 non ha nessun effetto sulla produzione di TGF- β da parte dei monociti e stimola l'espressione dell'IL-1RA, un'altra proteina anti-infiammatoria. In contrasto agli effetti sopra menzionati, l'IL-10 presenta anche effetti immunostimolatori. In presenza dell'IL-3 e dell'IL-4 inizia la crescita dei mastociti e delle loro cellule progenitrici. Inoltre, l'IL-10 guida la proliferazione e la differenziazione delle cellule B nelle cellule che producono anticorpi.

L'inibizione della produzione di citochine infiammatorie ed allo stesso tempo l'aumento della proteina anti-infiammatoria, come l'IL-1RA, l'IL-10 può giocare un ruolo importante nell'andamento di un numero di patologie diverse, inclusa la sepsi batterica, l'artrite reumatoide e la psoriasi.¹⁻⁹

Principio del Dosaggio

L'IMMULITE/IMMULITE 1000 IL-10 è un dosaggio immunometrico marcato con

enzima in chemiluminescenza ed in fase solida.

Cicli d'incubazione: 1 × 60 minuti.

Prelievo dei Campioni

I campioni di plasma EDTA provocano una depressione nelle concentrazioni apparenti di IL-10 e non sono perciò da utilizzarsi per la determinazione dell'IL-10.

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

I campioni lipemici, emolizzati o grossamente contaminati possono rendere risultati erranei.

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-10 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: 100 μ L di siero o di plasma eparinizzato. (Il porta campioni deve contenere almeno 250 μ L più del volume totale richiesto.)

Conservazione: 6 ore a 2–8°C o fino a 6 mesi a –20°C

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Eliminare secondo le normative di legge vigenti.

Seguire le precauzioni universali, e manipolare tutti i componenti come se potessero trasmettere agenti infettivi. Sono stati dosati i materiali di origine umana e sono stati trovati non reattivi per la sifilide; per gli anticorpi anti-HIV 1 e 2;

per l'antigene di Superficie dell'epatite B; e per gli anticorpi Anti-Epatite C.

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 set misto. Le etichette provviste di codice a barre sono necessarie per dosaggio.

Test Unit IL-10 (LXP1)

Ciascuna test unit etichettata con un codice a barre contiene una sferetta coattata con un anticorpo monoclonale murino anti-IL-10. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

LKXPZ: 50 unit. **LKXP1:** 100 unit.

Le buste 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 buste per proteggerle dall'umidità.

Porta Reagente IL-10 (LXP2)

Con codice a barre. 7,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino bovino) coniugata con un anticorpo monoclonale murino anti-IL-10 in un tampone. 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.

LKXPZ: 1 porta reagente.

LKXP1: 1 porta reagente.

Calibratori IL-10 (LXP1, LXP2)

Due flaconi (Basso ed Alto) di IL-10 liofila in una matrice di siero non umano.

Ricostituire ciascun flacone con **4,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare scuotendo dolcemente ed in modo 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.

LKXPZ: 1 set. **LKXP1:** 1 set.

Componenti del kit forniti separatamente

Diluyente 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: Tubi porta campioni (con codice a barre)

LSCP: Porta Campioni (monouso)

LSCC: Coperchi per Porta Campioni (opzionali)

LXPCM: Modulo di Controllo IMMULITE IL-10 (Matrice di controllo sintetica bi-livello).

Materiali richiesti

Pipette per il trasferimento 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.

Il porta campioni deve contenere almeno 250 µL più del volume totale richiesto. Ogni tubo porta campioni può essere seguito da quattro test unit.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 2 settimane.

Campioni per il Controllo di Qualità:

Utilizzare controlli o pool di campioni con almeno due livelli (bassi ed alto) di IL-10.

Valori Attesi

Uno studio sui range di riferimento su 55 adulti in apparente buono stato di salute ha prodotto una mediana di 1,5 pg/mL ed un 95° percentile di 9,1 pg/mL.

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

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tabelle grafici per \bar{x} dati *rappresentativi* delle prestazioni del dosaggio. I risultati sono espressi in pg/mL. (Se non diversamente descritto, tutti i risultati sono stati generati su campioni di siero prelevati in provette senza anticoagulanti, barriere di gel o additivi che favoriscano la coagulazione).

Range di calibrazione: Fino a 1 000 pg/mL.

Sensibilità analitica: 1 pg/mL.

Effetto Gancio a Dosi Elevate: Nessuno fino a 102 300 pg/mL.

Precisione: I campioni sono stati elaborati in doppio in 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi tabella "Precision".)

Specificità: Il dosaggio è altamente specifico per l'IL-10 (vedi tabella "Specificity").

Linearità: I campioni sono stati dosati a varie diluizioni. (Vedi tabella "Linearity" per \bar{x} dati rappresentativi.).

Recupero: Sono stati diluiti campioni 1:19 con tre soluzioni di IL-10 (550, 5 500 e

11 000 pg/mL). (Vedi tabella "Recovery" per \bar{x} dati rappresentativi).

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

Emolisi: Campioni molto emolizzati presentano poche elevazioni nella concentrazione di IL-10 apparente. (Vedi tabella "Hemolysis").

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 2 000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio. Concentrazioni più elevate possono provocare una depressione nella concentrazione apparente di IL-10. (Vedi tabella "Lipemia").

Comparazione di Metodi 1: Il dosaggio IMMULITE IL-10 è stato comparato ad un dosaggio disponibile in commercio per l'IL-10 (Kit A) su 167 campioni. (Range di concentrazione: da circa 5 a 300 pg/mL. Vedi grafico 1.) Mediante regressione lineare:

$$(IML) = 2,12 (\text{Kit A}) + 0,4 \text{ pg/mL}$$
$$r = 0,988$$

Valore medio:
61 pg/mL (IMMULITE)
29 pg/mL (Kit A)

Comparazione di Metodi 2: Il materiale per la calibrazione utilizzato per costruire la curva master IMMULITE IL-10 è stato comparato al materiale di riferimento IL-10 del WHO (WHO 93/722). (Vedi grafico 2). Mediante regressione lineare:

$$(\text{Calibrazione IML}) =$$
$$0,86 (\text{WHO 93/722}) + 0,7 \text{ pg/mL}$$
$$r = 1,00$$

Valore medio:
198 pg/mL (Calibrazione IMMULITE)
229 pg/mL (WHO 93/722)

Tipo di Campione Alternativo: Campioni ($n = 26$) sono stati prelevati in provette semplici, eparinizzate, EDTA e vacutainer SST[®]. A campioni misti è stata aggiunta IL-10 e quindi dosati con il dosaggio IMMULITE IL-10. Mediante regressione lineare:

$$(\text{Eparina}) = 1,02 (\text{Siero}) + 2,2 \text{ pg/mL}$$
$$r = 0,998$$

$$(\text{EDTA}) = 0,49 (\text{Siero}) - 8,1 \text{ pg/mL}$$
$$r = 0,982$$

(SST) = 0,94 (Siero) – 1,2 pg/mL
r = 0,999

Valore medio:
279 pg/mL (Siero)
286 pg/mL (Eparina)
128 pg/mL (EDTA)
260 pg/mL (SST)

Non si consiglia l'utilizzo di plasma EDTA nel dosaggio IMMULITE IL-10.

Assistenza Tecnica

All'Estero: contattare il proprio distributore nazionale.

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

Português

IMMULITE IL-10

Utilização: Para uso diagnóstico *in vitro* nos analisadores IMMULITE e IMMULITE 1000 – para obter a medida quantitativa da interleuquina 10 (IL-10) no soro ou plasma heparinizado, como auxiliar no estudo de doenças inflamatórias.

Números de catálogo: **LKXPZ** (50 testes), **LKXP1** (100 testes)

Código do teste: **I10** Cor: **Vermelho**

Sumário e explicação do teste

A citocina interleuquina-10 (IL-10) foi descoberta em 1989. É uma proteína de 35-40 kDa com 160 aminoácidos. Células TH0 e TH2, que representam diferentes subpopulações de células T, monocitos/macrófagos e células B tem capacidade de sintetizar IL-10.

Foi demonstrado que as células TH1 inibem a síntese de IL-10. Estas células secretam citocinas como interferon- γ , TNF- β e IL-2. Elas tendem a activar macrófagos para resposta aos antígenos. Além disso, IL-10 inibe a estimulação das células TH1 pelos macrófagos e monocitos. Adicionalmente, a IL-10 tem numerosos efeitos no sistema monocito/macrófago. Suprime a produção das chamadas citocinas inflamatórias IL-1 α , IL-6, IL-8 e GM-CSF, e a IL-10 endógena inibe a síntese de IL-10 pelos monocitos/macrófagos num mecanismo de feedback negativo. Além deste efeito

inibidor, a IL-10 não tem efeito na produção de TGF- β pelos monocitos e estimula a expressão de IL-1RA, outra proteína anti-inflamatória. Em contraste com os efeitos mencionados, a IL-10 mostra também efeitos imunoestimuladores. Na presença de IL-3 e IL-4 inicia-se o crescimento de mastócitos e das células progenitoras. Além disso, IL-10 promove a proliferação e diferenciação das células B nas células produtoras de anticorpos.

Devido à inibição da produção de citocinas inflamatórias e ao mesmo tempo da regulação superior das proteínas anti-inflamatórias, como IL-1RA, a IL-10 pode ter um papel importante na regulação de um número de doenças diversas, incluindo sepsis bacteriana, artrite reumatóide e psoríase.¹⁻⁹

Princípio do Procedimento

IMMULITE/IMMULITE 1000 IL-10 é um ensaio imunométrico de fase sólida por quimioluminescência.

Ciclos de incubação: 1 x 60 minutos.

Colheita

O plasma colhido com EDTA causa um decréscimo aparente nas concentrações aparentes de IL-10 pelo que não se recomenda o seu uso para a determinação de IL-10.

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

Amostras lipémicas, hemolisadas ou totalmente contaminadas podem causar resultados erróneos.

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-10 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: 100 µL de soro ou plasma heparinizado. (A cuvete da amostra deve conter no mínimo 250 µL mais que o total do volume requerido.)

Armazenagem: 6 horas a 2–8°C ou até 6 meses a –20°C

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Eliminar 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, 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.

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

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 necessários para o ensaio.

Unidades de Teste IL-10 (LXP1)

Cada unidade identificada com código de barras contem uma esfera revestida com um anticorpo monoclonal de murino anti IL-10. Estável até a data de validade a 2–8°C.

LKXPZ: 50 unidades.

LKXP1: 100 unidades.

Antes de abrir as saquetas com Unidades de Teste, deixe que estas atinjam a temperatura ambiente. Corte as saquetas pela borda superior, mantendo o fecho

intacto. Feche novamente as saquetas para proteger contra a humidade.

Embalagem de Reagentes IL-10 (LXP2)

Com códigos de barras. 7,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado com anticorpo monoclonal de murino anti-10 em tampão. 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.

LKXPZ: 1 embalagem.

LKXP1: 1 embalagem.

Ajustes IL-10 (LXPL, LXPH)

Dois frascos (Baixo e Alto) de IL-10 liofilizada em matriz de soro não humana. Reconstituir cada frasco com **4,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misturar suavemente por inversão intermitente. Aliquotar e congelar a –20°C em 3 horas após a reconstituição. Estável por 6 meses após a reconstituição a –20°C.

LKXPZ: 1 conjunto. **LKXP1:** 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 de Amostra (com código de barras)

LSCP: Cuvetes de Amostra (descartáveis)

LSCC: Tampa de Cuvetes de Amostra (opcional)

LXPCM: Módulo de Controlo IMMULITE IL-10 (Dois níveis, controlo de matriz sintética).

Também necessário

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

Procedimento de 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.

Vaso de amostra deve conter um mínimo de 250 µL a mais que o volume total exigido. Cada suporte de cuvete de amostra pode ser seguido por quatro unidades de teste.

Intervalo entre ajustes aconselhável: 2 semanas.

Amostras de Controlo de Qualidade: Use controlos ou misturas de amostras com pelo menos dois níveis (baixo e alto) de IL-10.

Valores de Referência

Um estudo realizado em 55 adultos aparentemente saudáveis originou uma mediana de 1,5 pg/mL e um percentil de 95% de 9,1 pg/mL.

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

Limitação

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

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em pg/mL. (Salvo outras referências, todos foram gerados em amostras de soro colhidas em tubos sem anticoagulantes, barreiras de gel ou aditivos promotores do coágulo)

Calibração: Até 1 000 pg/mL

Sensibilidade Analítica: 1 pg/mL

Efeito Hook de Alta Dose: Nenhum até 102 300 pg/mL

Precisão: Amostras foram processadas em duplicado num período de 20 dias, dois ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Consulte a tabela "Precision".)

Especificidade: O ensaio é altamente específico para IL-10 (ver "Specificity" table).

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

Recuperação: Amostras adicionadas 1 para 19 com três soluções de IL-10 (550, 5 500 e 11 000 pg/mL) foram ensaiadas. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina conjugada e não conjugada em concentrações até 200 mg/L não tem efeito no procedimento dentro da precisão do ensaio.

Hemólise: Amostras fortemente hemolizadas podem apresentar ligeiros acréscimos na concentração de IL-10. (Ver tabela de "Hemolysis")

Lipémia: A presença de triglicéridos em concentrações até 2 000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio. Altas concentrações podem causar um decréscimo na concentração aparente de IL-10 concentration. (Ver tabela de "Lipemia").

Comparação de Métodos 1: O procedimento do IMMULITE IL-10 foi comparado com um ensaio para IL-10 disponível comercialmente (Kit A) em 167

amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 5 a 300 pg/mL. Ver gráfico 1.) Regressão linear:

(IML) = 2,12 (Kit A) + 0,4 pg/mL
 $r = 0,988$

Médias:

61 pg/mL (IMMULITE)
29 pg/mL (Kit A)

Comparação de Métodos 2: O material de calibração usado para construir as curvas de calibração do IMMULITE IL-10 foi comparado com o material de referência da OMS para IL-10 (WHO 93/722). (Ver gráfico 2.) Regressão linear:

(IML Calibração) =
0,86 (WHO 93/722) + 0,7 pg/mL
 $r = 1,00$

Médias:

198 pg/mL (IMMULITE Calibração)
229 pg/mL (WHO 93/722)

Tipo de amostra alternativa: Foram colhidas amostras ($n = 26$) em tubos secos com heparina, EDTA e tubos de vácuo SST[®]. As amostras foram adicionadas com IL-10 e ensaiadas com o procedimento do IMMULITE IL-10. Regressão linear:

(Heparina) = 1,02 (Soro) + 2,2 pg/mL
 $r = 0,998$

(EDTA) = 0,49 (Soro) – 8,1 pg/mL
 $r = 0,982$

(SST) = 0,94 (Soro) – 1,2 pg/mL
 $r = 0,999$

Médias:

279 pg/mL (Soro)
286 pg/mL (Heparina)
128 pg/mL (EDTA)
260 pg/mL (SST)

Plasma colhido com EDTA não é recomendável como amostra no ensaio da IMMULITE IL-10.

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

2005-12-29

PILKXP – 9



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