

 IMMULITE[®]
2000

IL-6

DPC[®]

IMMULITE® 2000 IL-6

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE 2000 Analyzer — for the quantitative measurement of interleukin 6 (IL-6) in serum, EDTA or heparinized plasma, as an aid in the study of inflammatory diseases.

Catalog Number: **L2K6P2** (200 tests)

Test Code: **I6** Color: **Dark Green**

Summary and Explanation

Interleukin-6 (IL-6) is a mediator of the immune system, which has a wide variety of biological actions. It is also known as B cell stimulatory factor (BCSF), B cell stimulation factor 2 (BSF-2), hybridoma growth factor (HGF), hepatocyte stimulatory factor (HSF), cytolytic differentiation factor for T lymphocytes (CDF) and many others.

The IL-6 cDNA is coding for a polypeptide consisting of 212 amino acids. This protein is cleaved to a mature protein of 184 amino acids. Due to different degrees of glycosylation — at positions 73 and 172, respectively — and phosphorylation, IL-6 has a molecular weight ranging between 21.5 and 28 kDa.

Many different cells are capable of IL-6 synthesis including monocytes/macrophages, fibroblasts, endothelial cells, keratinocytes, mast cells, T cells and many tumor cell lines. *In vivo* and *in vitro*, IL-6 acts as a differentiation factor for B cells and an activation factor for T cells. In the presence of IL-2, it drives the differentiation of T cells to cytotoxic T cells and induces the proliferation of thymocytes. After stimulation with IL-4, an IL-6 stimulus is necessary for B cells to differentiate into Ig-secreting plasma cells. IL-6 is a potent growth factor of different human myelomas and is active in concentrations less than 10 pg/mL. IL-3 and IL-6 show *in vitro* synergistic effects in the differentiation of hematopoietic progenitor cells.

Elevated IL-6 serum or plasma levels may occur in different diseases including

sepsis, autoimmune diseases, lymphomas, AIDS, alcoholic liver disease and in patients with infections, or transplant rejection.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 IL-6 is a solid-phase, enzyme-labeled, chemiluminescent sequential immunometric assay.

Incubation Cycles: 2 × 30 minutes.

Specimen Collection

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

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

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

Blood collection tubes from different manufactures may yield differing values, depending on tube materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants. IMMULITE 2000 IL-6 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 µL serum, EDTA or heparinized plasma.

Storage: 1 day 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. Labels on the inside box are needed for the assay.

IL-6 Bead Pack (L26P12)

With barcode. 200 beads, coated with monoclonal murine anti-IL-6. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2K6P2: 1 pack.

IL-6 Reagent Wedge (L26PA2)

With barcode. 18.5 mL protein/buffer matrix and 18.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal sheep anti-IL-6 in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2K6P2: 1 wedge.

Before use, tear off the top of the label at the perforations, without damaging the barcode. Remove the foil seal from the top of wedge; snap the sliding cover down into the ramps on the reagent lid.

IL-6 Adjustors (L6PL, L6PH)

Two vials (Low and High) of lyophilized IL-6 in a protein/buffer matrix, with preservative. Reconstitute each vial with **3.0 mL** distilled or deionized water. Mix by gentle swirling or inversion until the lyophilized material is fully dissolved. Stable at 2–8°C for 3 days after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

L2K6P2: 1 set.

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes so that the barcodes can be read by the on-board reader.

Kit Components Supplied Separately

Multi-Diluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

For the on-board dilution of patient samples. One vial of concentrated (ready-to-use), nonhuman protein/buffer matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

L2M2Z: 25 mL. **L2M2Z4:** 55 mL.

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcode can be read by the on-board reader.

L2M2Z: 3 labels **L2M2Z4:** 5 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate

L2PWSM: Probe Wash

L2KPM: Probe Cleaning Kit

LRXT: Reaction Tubes (disposable)

L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

LILCM: A bi-level, human serum-based IMMULITE Cytokine Control Module containing IL-6.

Also Required

Distilled or deionized water; test tubes; controls.

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE 2000 Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval:
2 weeks.

Quality Control Samples: Use controls or sample pools with at least two levels (low and high) of IL-6.

Expected Values

A reference range study for IMMULITE 2000 IL-6 was performed on serum samples collected from 60 healthy laboratory volunteers into plain glass serum tubes. The non-parametric lower 95% range was from nondetectable to

3.4 pg/mL. The absolute range was from nondetectable to 5.9 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 gel barriers or clot-promoting additives.)

Calibration Range: Up to 1,000 pg/mL
NIBSC 1st IS 89/548 (IU/mL):
IU/mL = 0.1 × pg/mL.

Analytical Sensitivity: 2 pg/mL

High-dose Hook Effect:
None up to 60,000 pg/mL.

Precision: Samples were repeatedly assayed in duplicate over the course of several days for a total of 40 runs and 80 replicates. (See "Precision" table.)

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

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three IL-6 solutions (1,000, 4,000, and 8,000 pg/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for IL-6. (See "Specificity" table.)

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: Presence of hemoglobin in concentrations up to 550 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: To assess the effect of alternate sample types, blood was collected from 12 volunteers into plain glass and plastic serum tubes, plastic heparinized and EDTA tubes, and plastic gel barrier tubes (SST[®]). All tubes were from Becton Dickinson. Equal volumes of the matched samples were spiked with various concentrations of IL-6, to obtain values throughout the calibration range of the assay, and then assayed by the IMMULITE 2000 IL-6 procedure.

(EDTA Plastic) = 0.98 (Serum Glass) + 5.2 pg/mL

(Heparin Plastic) = 0.92 (Serum Glass) + 8.3 pg/mL

(SST Plastic) = 0.71 (Serum Glass) + 9.1 pg/mL

(Serum Plastic) = 0.76 (Serum Glass) + 7.1 pg/mL

Means:

186 pg/mL (Serum Glass)

188 pg/mL (EDTA Plastic)

180 pg/mL (Heparin Plastic)

142 pg/mL (SST Plastic)

148 pg/mL (Serum Plastic)

Method Comparison 1: The assay was compared to a commercially available assay for IL-6 (Kit A) on 109 patient samples. (Concentration range: approximately 3 to 300 pg/mL. See graph 1.) By linear regression:

(IML 2000) = 0.80 (Kit A) + 0.97 pg/mL

r = 0.975

Means:

100 pg/mL (IMMULITE 2000)

124 pg/mL (Kit A)

Method Comparison 2: The assay was also compared to DPC's IMMULITE IL-6 on 150 patient samples. (Concentration range: approximately 3 to 870 pg/mL. See graph 2.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.08 (IML) – 3.8 pg/mL

r = 0.994

Means:

215 pg/mL (IMMULITE 2000)

203 pg/mL (IMMULITE)

References

1) Hirano T, Akira S, Taga T, Kishimoto T. Biological and clinical aspects of interleukin-6. *Immunol Today* 1990;11:443-9. 2) Saito S, Kasahara T, Kato Y, Ishihara Y, Ichijo M. Elevation of amniotic fluid interleukin 6 (IL-6), IL-8 and granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) in term and preterm parturition. *Cytokine* 1993;5:81-8. 3) Waage A, Brandtzaeg P, Halstensen A, Kierulf P, Espevik, T. The complex pattern of cytokines in serum from patients with meningococcal septic shock. *J Exp Med* 1989; 169:333-8. 4) Hack CE, De Groot ER, Felt-Bersma RJF, Nuijens JH, Strack Van Schijndel RJM, Eerenberg-Belmer AJM, Thijs LG, Aarden LA. Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis. *Blood* 1989;74/5:1704-10. 5) Steinmetz HT, Herberth A, Bertram M, Diehl V. Increase in interleukin-6 serum level preceding fever in granulocytopenia and correlation with death from sepsis. *J Infect Dis* 1995;171:225-8. 6) Buck C, Bundschu J, Gallati H, Bartmann P, Pohlandt F. Interleukin-6: A sensitive parameter for the early diagnosis of neonatal bacterial infection. *Pediatrics* 1994;93:54-8. 7) Hummel M, Czerlinski S, Friedel N, Liebenthal C, Hapser D, von Baehr R, Hetzer R, Volk HD. Interleukin-6 and interleukin-8 concentrations as predictors of outcome in ventricular assist device patients before heart transplantation. *Critical Care Med* 1994;22:448-54. 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

Precision (pg/mL)

| | Mean ³ | Within-Run ¹ | | | Total ² | |
|---|-------------------|-------------------------|-----------------|------|--------------------|--|
| | | SD ⁴ | CV ⁵ | SD | CV | |
| 1 | 89 | 4.0 | 4.5% | 4.7 | 5.3% | |
| 2 | 112 | 3.7 | 3.3% | 8.1 | 7.2% | |
| 3 | 244 | 10.8 | 4.4% | 11.3 | 4.6% | |
| 4 | 421 | 19.6 | 4.7% | 23.4 | 5.6% | |
| 5 | 695 | 34.4 | 4.9% | 45.0 | 6.5% | |
| 6 | 724 | 27.3 | 3.8% | 39.4 | 5.4% | |

Linearity (pg/mL)

| | Dilution ¹ | Observed ² | Expected ³ | %O/E ⁴ |
|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|
| 1 | 8 in 8 | 59.4 | — | — |
| | 4 in 8 | 32.7 | 29.7 | 110% |
| | 2 in 8 | 15.6 | 14.9 | 105% |
| | 1 in 8 | 8.27 | 7.43 | 111% |
| 2 | 8 in 8 | 98.9 | — | — |
| | 4 in 8 | 54.2 | 49.5 | 109% |
| | 2 in 8 | 26.7 | 24.8 | 108% |
| | 1 in 8 | 14.7 | 12.4 | 119% |
| 3 | 8 in 8 | 444 | — | — |
| | 4 in 8 | 216 | 222 | 97% |
| | 2 in 8 | 114 | 111 | 103% |
| | 1 in 8 | 58.3 | 55.5 | 105% |
| 4 | 8 in 8 | 565 | — | — |
| | 4 in 8 | 282 | 283 | 100% |
| | 2 in 8 | 147 | 141 | 104% |
| | 1 in 8 | 72.6 | 70.6 | 103% |

Specificity

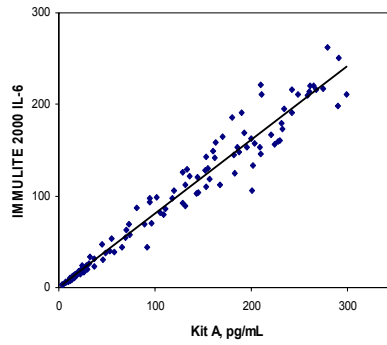
| Compound ¹ | pg/mL Added ² | Apparent pg/mL ³ | % Cross-reactivity ⁴ |
|-----------------------|--------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| IL-1 α | 10,000 | ND | ND |
| IL-1 β | 10,000 | ND | ND |
| IL-2 | 10,000 | ND | ND |
| IL-4 | 10,000 | ND | ND |
| IL-8 | 10,000 | ND | ND |
| TNF α | 10,000 | ND | ND |
| Interferon Gamma | 10,000 | ND | ND |

ND: not detectable.⁵

Recovery (pg/mL)

| | Solution ¹ | Observed ² | Expected ³ | %O/E ⁴ |
|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|
| 1 | — | — | — | — |
| | A | 50.3 | 50.0 | 101% |
| | B | 182 | 200 | 91% |
| | C | 409 | 400 | 102% |
| 2 | — | 86.8 | — | — |
| | A | 132 | 132 | 100% |
| | B | 267 | 282 | 95% |
| | C | 482 | 482 | 100% |
| 3 | — | 168 | — | — |
| | A | 203 | 210 | 97% |
| | B | 362 | 360 | 101% |
| | C | 604 | 560 | 108% |
| 4 | — | 229 | — | — |
| | A | 290 | 268 | 108% |
| | B | 436 | 418 | 104% |
| | C | 719 | 618 | 116% |
| 5 | — | 419 | — | — |
| | A | 401 | 448 | 90% |
| | B | 623 | 598 | 104% |
| | C | 888 | 798 | 111% |

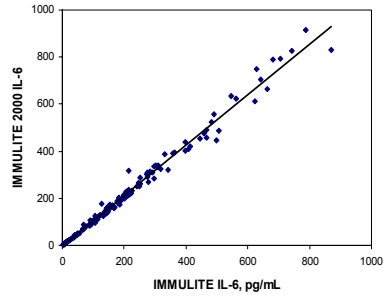
Method Comparison 1



$$(IML\ 2000) = 0.80 (\text{Kit A}) + 0.97 \text{ pg/mL}$$

$$r = 0.975$$

Method Comparison 2



$$(IML\ 2000) = 1.08 (IML) - 3.8 \text{ pg/mL}$$

$$r = 0.994$$

Deutsch. Precision: ¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴SD (Standardabweichung), ⁵CV (Variationskoeffizient). **Linearity:** ¹Verdünnung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵8 in 8. **Recovery:** ¹Probe, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E. **Specificity:** ¹Verbindung, ²zugesetzte Menge, ³Gemessene Konzentration, ⁴% Kreuzreaktivität, ⁵NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison:** IL-6: Interleukin-6.

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. **Specificity:** ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³Concentración aparente, ⁴% Reacción cruzada, ⁵ND: no detectable. **Method Comparison:** IL-6: IL-6.

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. **Specificity:** ¹Composé, ²ajouté, ³Concentration apparente, ⁴Réaction croisée %.

⁵ND: non détectable. **Method Comparison:** IL-6: IL6.

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. **Specificity:** ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Concentrazione apparente, ⁴Percentuale di Crossreattività, ⁵ND: non determinabile. **Method Comparison:** IL-6: IL-6.

Português. Precisão: ¹Intra-série, ²Total, ³Média, ⁴Desvio padrão, ⁵Coefficiente de variação. **Linearidade:** ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 em 8. **Recuperação:** ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Especificidade:** ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Concentração aparente, ⁴Porcentagem de reactividade cruzada, ⁵ND: não detectável. **Comparação de Métodos:** IL-6: Interleuquina 6.

Deutsch

IMMULITE 2000 IL-6

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung des IMMULITE 2000 Systems - zur quantitativen Bestimmung von Interleukin-6 in Serum, EDTA-Plasma oder Heparin-Plasma als Hilfestellung für die Untersuchung von entzündlichen Krankheiten.

Artikelnummern: **L2K6P2** (200 Tests)

Testcode: **I6** Farbe: **dunkelgrün**

Klinische Relevanz

Interleukin-6 (IL-6) ist eine Mediatorsubstanz des Immunsystems mit mannigfaltigen biologischen Aktivitäten. IL-6 ist auch bekannt als B-Zell-Stimulationsfaktor (BCSF), B-Zell-Stimulationsfaktor 2 (BSF-2), Hybridom-Wachstumsfaktor (HGF), Hepatozyten-Stimulationsfaktor (HSF), zytolytischer Differenzierungsfaktor für T-Lymphozyten (CDF) u.v.a.

Die cDNA von IL-6 kodiert für ein Polypeptid, das aus 212 Aminosäuren besteht. Dieses Protein wird in ein reifes, aus 184 Aminosäuren bestehendes Protein aufgespalten. Wegen verschiedener Grade der Glykosylierung (an Positionen 73 bzw. 172) und

Phosphorylierung variiert das Molekulargewicht von IL-6 zwischen 21,5 und 18 kDa.

IL-6 kann von vielen verschiedenen Zellarten synthetisiert werden, darunter Monozyten/Makrophagen, Fibroblasten, Endothelzellen, Keratinozyten, Mastzellen, T-Zellen und viele Tumorzelllinien. IL-6 fungiert *in vivo* und *in vitro* als Differenzierungsfaktor für B-Zellen und Aktivierungsfaktor für T-Zellen. Im Beisein von IL-2 bewirkt es, dass T-Zellen zu zytotoxischen T-Zellen differenzieren und dass Thymozyten proliferieren. B-Zellen benötigen nach Stimulation mit IL-4 einen IL-6-Stimulus, um zu Ig-sezierenden Plasmazellen zu differenzieren. IL-6 ist ein potenter Wachstumsfaktor für verschiedene menschliche Myelome und entfaltet seine Aktivitäten bereits in Konzentrationen von unter 10 pg/ml. IL-3 und IL-6 zeigen *in vitro* bei der Differenzierung von hämopoetischen Vorläuferzellen synergistische Effekte.

Erhöhte IL-6-Werte in Serum oder Plasma können bei verschiedenen Krankheiten wie etwa Sepsis, Autoimmunerkrankungen, Lymphome, AIDS, alkoholbedingten Leberschäden sowie bei Infektionen oder Organabstoßung auftreten.

Methodik

IMMULITE 2000 IL-6 ist ein sequentieller Festphasen-Chemilumineszenz-immunometrischer Assay.

Inkubationszyklen: 2 × 30 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 2000 IL-6 wurde noch nicht mit allen erhältlichen Röhrchentypen getestet. Der Abschnitt zu den verschiedenen Probenarten enthält nähere Informationen zu den bereits getesteten Röhrchentypen.

Erforderliche Menge: 100 µl Serum, EDTA-Plasma oder Heparin-Plasma.

Lagerung: 1 Tag bei 2–8°C oder 6 Monate 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.

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 bzw. deionisiertes Wasser benutzen.

Im Lieferumfang enthalten

Die Bestandteile sind aufeinander abgestimmt. Die Aufkleber auf der

Innenverpackung werden zur Testdurchführung gebraucht.

IL-6 Kugelcontainer (L26P12)

Barcodiert. 200 Kugeln beschichtet mit Anti-IL-6 (monoklonal, Maus). Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.

L2K6P2: 1 Container.

IL-6 -Reagenzbehälter (L26PA2)

Barcodiert. 18,5 ml gepufferte Proteinmatrix und 18,5 ml mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiertes polyklonales Anti-IL-6 (Schaaf) in Pufferlösung (mit Konservierungsmittel). Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.

L2K6P2: 1 Behälter.

Vor Gebrauch den Aufkleber an der Perforation abreißen, ohne dabei die Barcodierung zu beschädigen. Die Folie von der Oberseite des Containers entfernen. Die Folie von der Oberseite des Containers entfernen. Den Schiebedeckel nach unten in die Führung des Reagenziendeckels einrasten lassen.

IL-6 Kalibratoren (L6PL, L6PH)

Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit lyophilisiertem IL-6 in einer Protein-/Puffermatrix (mit Konservierungsmittel). Fläschchen mit je **3,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Zum Mischen leicht schwenken oder umdrehen, bis das lyophilisierte Material vollständig aufgelöst ist. Nach Rekonstituierung 3 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.

L2K6P2: 1 Set.

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Glasröhrchen kleben, so dass die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

Multidiluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Zum automatischen Verdünnen der Patientenproben. Eine Flasche enthält konzentrierte nichthumane Protein-/Puffermatrix, mit Konservierungsstoffen (gebrauchsfertig). 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C oder für 6 Monate

(aliquotiert) bei –20°C haltbar.
L2M2Z: 25 ml. **L2M2Z4:** 55 ml.

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16×100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.

L2M2Z: 3 Etiketten **L2M2Z4:** 5 Etiketten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substrat

L2PWSM: Waschmodul

L2KPM: Reinigungsmodul

LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße

L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung

L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

LILCM: IMMULITE Zytokin-Kontrolle. IL-6 in menschlichen Serum mit zwei unterschiedlichen Konzentrationen (niedrig und hoch).

Ebenfalls benötigt

Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser;
Teströhrchen; Kontrollen.

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im IMMULITE 2000-Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Hinweise zur Vorbereitung, täglichen Inbetriebnahme des Systems, der Kalibrierung sowie Verfahren zur Test- und Qualitätskontrolle entnehmen Sie bitte dem IMMULITE 2000-Handbuch.

Empfohlenes Kalibrationsintervall: 2 Wochen.

Qualitätskontrollproben: Kontrollen oder Poolseren mit IL-6 in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Referenzwerte

In einer Referenzbereichsstudie für IMMULITE 2000 IL-6 wurden Serumproben von 60 klinisch unauffälligen Laborprobanden in einfachen Glasserumröhrchen untersucht. Im nichtparametrischen unteren 95%-Konfidenzintervall lagen die Werte zwischen „nicht nachweisbar“ bis 3,4 pg/ml. In absoluten Zahlen reichten

die Werte von „nicht nachweisbar“ bis 5,9 pg/ml.

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

Grenzen der Methode

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

Leistungsdaten

Siehe Tabellen und Grafiken mit *repräsentativen* Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind als pg/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Messbereich: bis 1 000 pg/ml
NIBSC 1st IS 89/548 (IU/mL):
IU/mL = 0,1 × pg/ml,

Analytische Sensitivität: 2 pg/ml

High-Dose-Hook-Effect: Bis 60 000 pg/ml keiner.

Präzision: Verschiedene Proben wurden in Zweifachbestimmung über mehrere Tage bestimmt in einer Gesamtzahl von 40 Läufen mit 80 Bestimmungen; siehe Tabelle „Precision“).

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

Wiederfindung: Die getesteten Proben waren mit drei Interleukin-6-Lösungen (1 000, 4 000, und 8 000 pg/ml) 1:19 versetzt. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Hochspezifischer IL-6-Antikörper. (siehe Tabelle „Specificity“.)

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: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 550 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.

Alternativer Probenotyp: Um die Auswirkungen von verschiedenen Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 12 Probanden in einfache Serumröhrchen aus Glas und Kunststoff und in Heparin-, EDTA- und SST®-Trenngelröhrchen aus Kunststoff entnommen. Alle Röhrchen wurden von Becton Dickinson hergestellt. Gleiche Volumina der jeweiligen Proben wurden mit verschiedenen Konzentrationen von IL-6 versetzt, um Werte im gesamten Kalibrationsbereich zu erhalten. Anschließend wurden die Proben mit dem IMMULITE 2000 IL-6 -Assay analysiert.

(EDTA-Röhrchen aus Kunststoff) = 0,98
(Serumröhrchen aus Glas) + 5,2 pg/ml

(Heparinisierte Röhrchen aus Kunststoff) = 0,92
(Serumröhrchen aus Glas) + 8,3 pg/ml

(SST-Röhrchen aus Kunststoff) = 0,71
(Serumröhrchen aus Glas) + 9,1 pg/ml

(Serumröhrchen aus Kunststoff) = 0,76
(Serumröhrchen aus Glas) + 7,1 pg/ml

Mittelwerte:

186 pg/ml (Serumröhrchen aus Glas)

188 pg/ml (EDTA-Röhrchen aus Kunststoff)

180 pg/ml (Heparinisierte Röhrchen aus Kunststoff)

142 pg/ml (SST-Röhrchen aus Kunststoff)

148 pg/ml (Serumröhrchen aus Kunststoff)

Methodenvergleich 1: Der Assay wurde anhand von 109 Patientenproben mit einem kommerziell erhältlichen IL-6 Assay verglichen. (Konzentrationsbereich: ca.

3 – 300 pg/ml. Siehe Grafik 1.)

Berechnung der linearen Regression:

(IML 2000) = 0,80 (Kit A) + 0,97 pg/ml
r = 0,975

Mittelwerte:

100 pg/ml (IMMULITE 2000)

124 pg/ml (Kit A)

Methodenvergleich 2: Der Assay wurde anhand von 150 Patientenproben mit dem IMMULITE IL-6 Assay von DPC verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 3 – 870 pg/ml. Siehe Grafik 2.)

Berechnung der linearen Regression:

(IML 2000) = 1,08 (IML) – 3,8 pg/ml
r = 0,994

Mittelwerte:

215 pg/ml (IMMULITE 2000)

203 pg/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

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

Español

IMMULITE 2000 IL-6

Utilidad del análisis: Para su uso en el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE 2000 — para la medición cuantitativa de interleucina 6 (IL-6) en suero, en plasma EDTA o en plasma heparinizado, como ayuda en el estudio de enfermedades inflamatorias.

Referencia: **L2K6P2** (200 tests)

Código del Test: **I6**

Código de Color: **Verde oscuro**

Resumen y Explicación del Test

La interleucina-6 (IL-6) es un mediador del sistema inmunitario, que interviene en una gran variedad de acciones biológicas. También es conocida como factor de estimulación de las células B (BCSF), factor 2 de estimulación de las células B (BSF-2), factor de crecimiento de hibridoma (HGF), factor de estimulación de hepatocitos (HSF), factor de diferenciación citolítico para los linfocitos T (CDF) y muchos otros.

El ADNc de la IL-6 codifica un polipéptido que consta de 212 aminoácidos. Esta proteína está unida a una proteína madura de 184 aminoácidos. Debido a los distintos grados de glicosilación (en las posiciones 73 y 172, respectivamente) y de fosforilación, IL-6 tiene un peso molecular que oscila entre 21,5 y 28 kDa.

Hay muchas células distintas que pueden realizar la síntesis de IL-6, como es el caso de los monocitos/ macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, queratinocitos, mastocitos, células T y en varias líneas tumorales. *In vivo* e *in vitro*, IL-6 funciona como un factor de diferenciación para las células B y como un factor de activación para las células T. Ante la presencia de IL-2, se produce la diferenciación de las células T en células T citotóxicas e induce la proliferación de timocitos. Después de la estimulación con IL-4, es necesario un estímulo de IL-6 para que las células B se diferencien en células plasmáticas secretoras de Ig. IL-6 es un potente factor de crecimiento de distintos mielomas humanos y que está activo en concentraciones inferiores a 10 pg/ml. IL-3 e IL-6 muestran efectos sinérgicos *in vitro* en la diferenciación de células hematopoyéticas progenitoras.

Pueden producirse niveles elevados de IL-6 en suero o plasma en distintas enfermedades, tales como sepsis, enfermedades autoinmunes, linfomas, SIDA, cirrosis hepática y en pacientes con infecciones o rechazos a trasplantes.

Principio del análisis

IMMULITE 2000 IL-6 es un ensayo inmunométrico enzimático secuencial en fase sólida por quimioluminiscencia.

Ciclos de incubación: 2 × 30 minutos.

Recogida de la muestra

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

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

La centrifugación de las muestras de suero antes de que se forme el coágulo puede ocasionar la presencia de fibrina.

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

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El IMMULITE 2000 IL-6 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos. Para obtener detalles sobre los tipos de tubos que se han analizado, consulte la sección de Tipos de Muestras Alternativas.

Volumen requerido: 100 µl suero, en plasma EDTA o en plasma heparinizado.

Conservación: 1 día 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 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.

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.

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 incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de Bolas IL6 (L26P12)

Con código de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal de ratón anti-IL6. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2K6P2: 1 cartucho.

Vial de reactivo de IL-6 (L26PA2)

Con códigos de barras. 18,5 ml de una matriz proteica, en solución tampón y 18,5 ml fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpo policlonal de oveja anti-IL-6, en solución tampón, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2K6P2: 1 vial.

Antes de usar, cortar la parte superior de la etiqueta en la perforación, sin dañar el código de barras. Quitar el precinto del orificio del vial; encajar la cubierta deslizante en las rampas de la tapa del reactivo.

Ajustadores de IL-6 (L6PL, L6PH)

Dos viales (bajo y alto) que contienen IL-6 liofilizada en una matriz de proteína, en solución tampón, con conservante.

Reconstituya cada vial con **3,0 ml** de agua destilada o desionizada. Mezcle por agitación o inversión suave hasta que se haya disuelto completamente el material liofilizado. Estable a 2–8°C durante 3 días después de la reconstitución, o hasta 6 meses (alícuotados) a –20°C.

L2K6P2: 1 juego.

Antes de hacer un ajuste, colocar las etiquetas a las alícuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

Componentes del kit que se suministran por separado

Multidiluyente 2 (L2M2Z L2M2Z4)

Para la dilución de las muestras del paciente que van a analizarse. Un vial de matriz proteica no humana concentrada (listo para el uso), con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de su apertura, o durante 6 meses

(alícuotado) a –20°C.

L2M2Z: 25 ml. **L2M2Z4:** 55 ml.

Se suministran códigos de barras con el diluyente. Antes de usar, colocar la etiqueta a un tubo de 16 × 100 mm, de modo que el código de barras pueda ser leído por el lector del equipo.

L2M2Z: 3 etiquetas **L2M2Z4:** 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminiscente

L2PWSM: Lavado de sonda

L2KPM: Kit de limpieza de sonda

LRXT: Tubos de reacción (desechables)

L2ZT: 250 Tubos De Prueba Del

Diluyente De la Muestra (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del

Diluyente De la Muestra

LILCM: módulo control de citoquinas con IL-6 de dos niveles en una matriz de suero humano.

También necesarios

Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; 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 2000.

Consulte el Manual del operador de IMMULITE 2000 para: la preparación, instalación, dilución, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

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-6 (bajo y alto).

Valores esperados

Se realizó un estudio de rangos de referencia para el ensayo IL-6 IMMULITE 2000 con sueros procedentes de 60 voluntarios sanos recogidos en tubos de cristal sin anticoagulante. El rango no paramétrico inferior al 95% fue desde indetectable hasta 3,4 pg/ml. El rango absoluto fue desde indetectable hasta 5,9 pg/ml.

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

Limitación

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características analíticas

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

Intervalo de calibración:

Hasta 1 000 pg/ml

NIBSC 1st IS 89/548 (IU/mL):

IU/mL = 0,1 × pg/ml,

Sensibilidad analítica: 2 pg/ml

Efecto de gancho a altas dosis:

Ninguno hasta 60 000 pg/ml.

Precisión: Las muestras fueron procesadas en duplicado durante varios días, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Ver la tabla "Precisión").

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

Recuperación: Se han analizado las muestras cargadas 1 a 19 con tres soluciones (1 000, 4 000, y 8 000 pg/ml) de IL-6. (Ver la tabla "Recuperación" para resultados representativos).

Especificidad: El anticuerpo es altamente específico para IL-6. (Ver la tabla "Especificidad".)

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: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 550 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 de Muestra Alternativa: Para evaluar el efecto de los distintos tipos de muestras alternativas, se recogió sangre de 12 voluntarios en tubos de plástico y de vidrio para suero, en tubos de plástico heparinizados y con EDTA y en tubos con una barrera de gel (SST[®]). Todos los tubos fueron de Becton Dickinson. Volúmenes iguales de las distintas muestras fueron sobrecargados con varias concentraciones de IL-6 para cubrir todo el rango de calibración del ensayo, y procesados por el procedimiento IMMULITE 2000 IL-6.

(EDTA en plástico) = 0,98 (Suero en vidrio) + 5,2 pg/ml

(Heparina en plástico) = 0,92 (Suero en vidrio) + 8,3 pg/ml

(SST en plástico) = 0,71 (Suero en vidrio) + 9,1 pg/ml

(Suero en plástico) = 0,76 (Suero en vidrio) + 7,1 pg/ml

Medias:

186 pg/ml (Suero en vidrio)

188 pg/ml (EDTA en plástico)

180 pg/ml (Heparina en plástico)

142 pg/ml (SST en plástico)

148 pg/ml (Suero en plástico)

Método Comparativo 1: El ensayo fue comparado con un kit comercialmente disponible de IL-6 (Kit A) con 109 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente de 3 a 300 pg/ml. Ver el gráfico 1.) Por regresión lineal:

(IML 2000) = 0,80 (Kit A) + 0,97 pg/ml
r = 0,975

Medias:
100 pg/ml (IMMULITE 2000)
124 pg/ml (Kit A)

Método Comparativo 2: El ensayo también fue comparado con IL-6 IMMULITE de DPC con he assay was also 150 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente de 3 a 870 pg/ml. Ver el gráfico 2.) Por regresión lineal:

(IML 2000) = 1,08 (IML) – 3,8 pg/ml
r = 0,994

Medias:
215 pg/ml (IMMULITE 2000)
203 pg/ml (IMMULITE)

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 2000 IL-6

Domaine d'utilisation : Dosage quantitatif de l'interleukine-6 (IL6) dans le sérum, le plasma hépariné ou EDTA. Réserve à un usage diagnostic *in vitro* avec les analyseurs IMMULITE 2000, ce test constitue une aide pour l'étude des maladies inflammatoires.

Référence catalogue : **L2K6P2** (200 tests)

Code produit : **I6**
Code couleur : **vert foncé**

Introduction

L'interleukine-6 (IL-6) est un médiateur du système immunitaire ayant une grande variété d'activités biologiques. Elle est également connue sous les noms de facteur stimulant les cellules B (BCSF) ; facteur-2 stimulant les cellules B (BSF-2) ; facteur de croissance des hybridomes (HGF) ; facteur stimulant les hépatocytes (HSF) ; facteur de différenciation des lymphocytes T (CDF) et bien d'autres encore.

L'ADNc de l'IL-6 encode un polypeptide de 212 acides aminés. Ce précurseur est clivé en une protéine mature de 184 acides aminés. En raison de degrés

différents de glycosylation — aux positions 73 et 172 — et de phosphorylation, la masse moléculaire de l'IL-6 varie de 21,5 à 28 kDa.

De nombreuses cellules différentes sont capables de synthétiser l'IL-6, comme les monocytes, les fibroblastes, les cellules endothéliales, les kératinocytes, les mastocytes, les lymphocytes T et de nombreuses lignées cellulaires tumorales. *In vivo* et *in vitro*, l'IL-6 agit comme facteur de différenciation pour les lymphocytes B et comme facteur d'activation pour les lymphocytes T. En présence d'IL-2, elle assure la différenciation des lymphocytes T en lymphocytes T cytotoxiques et induit la prolifération des thymocytes. Après une stimulation par l'IL-4, un stimulus de l'IL-6 est nécessaire pour que les lymphocytes B se différencient en plasmocytes sécréteurs d'immunoglobulines. L'IL-6 est un puissant facteur de croissance pour différents myélomes humains, actif à des concentrations inférieures à 10 pg/ml. L'IL-3 et l'IL-6 ont des effets synergiques *in vitro* dans la différenciation des cellules progénitrices hématopoïétiques.

Des taux sériques ou plasmatiques élevés d'IL-6 peuvent être observés au cours de différentes pathologies, comme la septicémie, les maladies auto-immunes, les lymphomes, le SIDA, la cirrhose du foie et en cas d'infection ou de rejet de greffe.

Principe du test

L'IMMULITE 2000 IL-6 est un test immunométrique séquentiel chimiluminescent par amplification enzymatique, en phase solide.

Cycles d'incubation : 2 × 30 minutes.

Recueil des échantillons

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

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

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés

dûs 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. IL-6 IMMULITE 2000 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 testés.

Volume nécessaire : 100 µl de sérum ou de plasma hépariné ou EDTA.

Conservation : 1 jour 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. 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-HCV 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 les contaminations 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 l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

Cartouche de billes IL-6 (L26P12)

Avec code-barre. 200 billes revêtues d'anticorps monoclonal murin anti-IL-6. Stable à +2/ +8 °C jusqu'à la date de péremption.

L2K6P2: 1 cartouche.

Cartouche à réactif IL-6 (L26PA2)

Avec code-barres. 18,5 ml de matrice tampon/ protéine et 18,5 ml d'anticorps polyclonal de mouton anti-IL-6 marqué à la phosphatase alcaline (intestins de veau) dans un tampon, avec conservateur. Stable à +2/ +8 °C jusqu'à la date de péremption.

L2K6P2: 1 cartouche.

Avant l'emploi, retirer la partie supérieure de l'étiquette au niveau des perforations en ayant soin de ne pas endommager le code-barres. Retirer le film protecteur situé sur la partie supérieure de la cartouche-réactif ; insérer le couvercle coulissant entre les glissières sur le dessus de la cartouche-réactif.

Ajusteurs IL-6 (L6PL, L6PH)

2 flacons d'ajusteurs (« bas » et « haut ») contenant de l'IL-6 lyophilisée dans une matrice tampon/ protéines, avec conservateur. Reconstituer chaque flacon avec **3,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger doucement jusqu'à complète dissolution de la substance lyophilisée. Stable à +2°C/+8°C pendant 3 jours après reconstitution ou 6 mois (aliquoté) à -20 C.

L2K6P2: 1 jeu.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes en verre de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

Multi-diluant 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Pour la dilution par l'appareil des échantillons cliniques. Un flacon de matrice protéine non humaine/tampon,

concentrée (prête à l'emploi), avec conservateur. Stable à +2–8°C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.

L2M2Z: 25 ml. **L2M2Z4**: 55 ml.

Des étiquettes à code-barre sont fournies pour être utilisées avec le diluant. Avant utilisation, coller une étiquette appropriée sur le tube 16 × 100 mm de manière à ce que le code-barre soit lisible par le lecteur à bord de l'automate.

L2M2Z: 3 étiquettes **L2M2Z4**: 5 étiquettes

L2SUBM : Substrat chimiluminescent

L2PWSM : Solution de lavage

L2KPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LRXT : Godets réactionnels (jetables)

L2ZT : 250 Tubes À essai De Diluant échantillon (16 × 100 mm)

L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

LILCM: Contrôle multiparamétrique à deux niveaux IMMULITE Cytokines, à base de sérum humain, contenant de l'IL-6.

Egalement requis

Eau distillée ou désionisée ; tubes ; 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 2000.

Se reporter au manuel d'utilisation de l'IMMULITE 2000 pour : la préparation, le démarrage du système, le dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé : 2 semaines.

Echantillons pour le contrôle de qualité : utiliser des Contrôles ou des pools de Echantillons avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) d' IL6.

Valeurs de référence

Une étude de valeurs de références pour l'Immunité 2000 IL-6 a été réalisée sur des échantillons sériques prélevés de 60 volontaires en bonne santé sur tubes secs en verre. Le domaine non-paramétrique

bas à 95 % allait de non détectable à 3,4 pg/mL. Le domaine absolu allait de non détectable à 5,9 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. (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 :

jusqu'à 1 000 pg/ml

NIBSC 1st IS 89/548 (UI/ml):

UI/ml = 0,1 × pg/ml,

Sensibilité analytique : 2 pg/ml

Accoutumance aux doses élevées :

aucune jusqu'à 60 000 pg/ml.

Précision : les échantillons ont été dosés en duplicata pendant plusieurs jours, soit un total de 40 séries et de 80 résultats. (Voir le tableau « Précision ».)

Test de dilution : Des échantillons ont été dosés à différentes concentrations.

(Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Test de récupération : des échantillons dosés ont été chargés dans une proportion de 1 à 19 avec trois solutions d'IL6 (1 000, 4 000, et 8 000 pg/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : L'anticorps utilisé est hautement spécifique de IL-6. (Voir le tableau « Specificity ».)

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 : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 550 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.

Autres types d'échantillons: Pour estimer l'effet de l'utilisation de différents types d'échantillons, 12 volontaires ont été prélevés sur tubes de verre et de plastique secs, sur tubes de plastique héparinés et EDTA et sur tubes de plastique à barrière gel SST®, tous fabriqués par Becton Dickinson. Des volumes égaux de ces différents échantillons ont été mélangés avec plusieurs concentrations d'IL-6 pour obtenir des valeurs à l'intérieur du domaine de mesure du test puis dosés avec le protocole l'IMMULITE 2000 IL-6.

(Plastique EDTA) = 0,98 (Tube à sérum en verre) + 5,2 pg/ml

(Plastique hépariné) = 0,92 (Tube à sérum en verre) + 8,3 pg/ml

(Plastique SST) = 0,71 (Tube à sérum en verre) + 9,1 pg/ml

(Tube à sérum en plastique) = 0,76 (Tube à sérum en verre) + 7,1 pg/ml

Moyennes :

186 pg/ml (Tube à sérum en verre)

188 pg/ml (Plastique EDTA)

180 pg/ml (Plastique hépariné)

142 pg/ml (Plastique SST)

148 pg/ml (Tube à sérum en plastique)

Comparaison de Méthode 1: Ce dosage a été comparé à un autre test disponible sur le marché pour l'IL-6 (Kit A) sur 109 échantillons de patients. (intervalle de

concentrations : environ de 3 à 300 pg/ml. Voir graphique 1.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,80 (Kit A) + 0,97 pg/ml
 $r = 0,975$

Moyennes :
100 pg/ml (IMMULITE 2000)
124 pg/ml (Kit A)

Comparaison de Méthode 2: Le test a été également comparé au dosage IMMULITE IL-6 de DPC sur 150 échantillons de patients. (intervalle de concentrations : environ de 3 à 870 pg/ml. Voir graphique 2.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,08 (IML) – 3,8 pg/ml
 $r = 0,994$

Moyennes :
215 pg/ml (IMMULITE 2000)
203 pg/ml (IMMULITE)

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 2000 IL-6

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con gli Analizzatori IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa dell'Interleuchina 6 (IL-6) nel siero o nel plasma EDTA o eparinizzato, quale ausilio nello studio delle infiammazioni.

Codice: **L2K6P2** (200 test)

Codice del Test: **I6** Colore: **verde scuro**

Riassunto e Spiegazione del Test

L'Interleuchina-6 (IL-6) è un mediatore del sistema immunitario, che presenta innumerevoli azioni biologiche. E' conosciuta anche come fattore stimolante delle cellule B (BCSF), fattore stimolante 2 delle cellule B (BSF-2), fattore di crescita dell'ibridoma (HGF), fattore stimolante degli epatociti (HSF), fattore di differenziazione citolitica per i linfociti T (CDF) ed in molti altri modi.

L'IL-6 cDNA è un codice per un polipeptide composto da 212 aminoacidi. Questa proteina è spaccata da una proteina matura di 184 aminoacidi. A causa di diversi gradi di glicosilazione — nelle posizioni 73 e 172, rispettivamente — e nella fosforilazione, l'IL-6 ha un peso molecolare tra i 21,5 ed i 28 kDa.

Molte cellule diverse sono in grado di sintetizzare l'IL-6, inclusi i monociti/macrofagi, i fibroblasti, le cellule epiteliali, i cheratinociti, le cellule di supporto, le cellule T, e molte cellule tumorali. *In vivo* ed *in vitro*, l'IL-6 agisce come fattore di differenziazione per le cellule B e fattore di attivazione per le cellule T. In presenza dell'IL-2, favorisce la differenziazione dalle cellule T alle cellule T citotossiche ed induce la proliferazione dei timociti. Dopo stimolo con IL-4, è necessario uno stimolo con IL-6 perchè le cellule B possano differenziarsi in cellule plasmatiche che secernono Ig. L'IL-6 è un potente fattore di crescita di diversi mielomi umani ed è attiva in concentrazioni inferiori a 10 pg/mL. L'IL-3 e l'IL-6 presentano effetti sinergici *in vitro* nella differenziazione delle cellule progenitrici ematopoietiche.

Livelli elevati di IL-6 nel siero o nel plasma possono presentarsi in diverse malattie, inclusa la sepsi, le malattie autoimmuni, il linfoma, l'AIDS, la cirrosi epatica ed in pazienti con infezioni o nel fenomeno di rigetto a seguito di trapianto.

Principio del Dosaggio

L'IMMULITE 2000 IL-6 è un dosaggio chemiluninescente sequenziale immunometrico in fase solida marcato con enzima.

Cicli d'incubazione: 2 × 30 minuti.

Prelievo dei Campioni

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

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

La centrifugazione dei campioni di siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina,

assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. IMMULITE 2000 IL-6 non è stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante i Campioni Alternativi per dettagli sulle provette che sono state esaminate.

Volume richiesto: 100 µL di siero o di plasma EDTA o eparinizzato.

Conservazione: 1 giorno a 2–8°C o 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.

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

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

Acqua: Utilizzare solo acqua distillata o deionizzata.

Materiali forniti

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

Contenitore di Sferette IL-6 (L26P12)
Con codice a barre. 200 sferette, coattate con un anticorpo monoclonale murino anti-IL-6. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2K6P2: 1 Confezione.

Porta Reagente IL-6 (L26PA2)

Con codice a barre. 18,5 mL di una matrice/tampone proteico e 18,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo policlonale di pecora anti-IL-6 in un tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2K6P2: 1 porta reagente.

Prima dell'utilizzo rimuovere la parte superiore dell'etichetta lungo la perforazione senza danneggiare il codice a barre. Togliere il foglio protettivo dalla parte superiore del flacone. Far scattare nella corretta posizione il coperchio scorrevole lungo le guide del coperchio del reagente.

Calibratori IL-6 (L6PL, L6PH)

Due flaconi (Basso ed Alto), ciascuno con IL-6 liofila in una matrice/tampone proteica, con conservanti. Ricostituire ogni flacone con **3,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare agitando delicatamente o invertendo la miscela finché il materiale liofilo sia completamente dissolto. Stabile a 2–8°C per 3 giorni dopo la ricostituzione, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

L2K6P2: 1 set.

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste (fornite col kit) sulle provette delle aliquote cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Componenti del kit forniti separatamente

Multidiluyente 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Per la diluizione interna dei campioni dei pazienti. Un flacone di una matrice/tampone proteica non umana con conservanti (pronta all'uso). Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

L2M2Z: 25 mL. **L2M2Z4:** 55 mL.

Vengono fornite le etichette provviste di codice a barre da utilizzarsi con il diluente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta

da 16 x 100 mm sulla provetta in modo che il codice a barre possa essere letto dal lettore interno.

L2M2Z: 3 etichette **L2M2Z4:** 5 etichette.

L2SUBM: Substrato Chemiluminescente

L2PWSM: Tampone di Lavaggio dell'Ago

L2KPM: Kit di Pulizia dell'Ago

LRXT: Tubi di Reazione (monouso)

L2ZT: 250 Provette (16 × 100 mm) per Diluente del Campione

L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluente del Campione

LILCM: Un controllo Citochina IMMULITE a due livelli di siero umano contenente IL-6.

Materiali richiesti

Acqua distillata o deionizzata; Provette; controlli.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definite nel Manuale dell'Operatore IMMULITE 2000.

Vedi Manuale dell'Operatore IMMULITE 2000 per: preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato:
2 settimane.

Campioni per il controllo di qualità:

Usare controlli o campioni con almeno due livelli (basso ed alto) di IL-6.

Valori Attesi

E' stato effettuato uno studio sul range di riferimento per l'IMMULITE 2000 IL-6 su campioni di siero fornita da 60 volontari di laboratorio in buona salute prelevati in provette di vetro semplici per il siero. Il range inferiore non parametrico al 95% era da non rilevabile a a 3,4 pg/mL. Il range assoluto era da non rilevabile a 5,9 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 con questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

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

Range di calibrazione:

Fino a 1 000 pg/mL
NIBSC 1st IS 89/548 (IU/mL):
IU/mL = 0,1 × pg/mL,

Sensibilità Analitica: 2 pg/mL

Effetto Gancio a Dosi Elevate: Nessun effetto fino a 60 000 pg/mL.

Precisione: I campioni sono stati ripetutamente dosati in doppio nel corso di più giorni, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi tabella "Precision")

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

Recupero: Sono stati dosati campioni 1: 19 con tre soluzioni di IL-6 (1 000, 4 000, e 8 000 pg/mL). (Vedi tabella "Recovery" per dati rappresentativi).

Specificità: L'anticorpo è molto specifico per l'IL-6. (Vedi tabella "Specificity".)

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: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 550 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: Per valutare l'effetto di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue proveniente da 12 volontari in provette per siero di vetro semplice, di plastica, di plastica eparinizzata, EDTA e di plastica a barriere di gel (SST[®]). Tutte le provette erano Becton Dickinson. Ad eguali volumi di campioni misti sono state aggiunte varie concentrazioni di IL-6 per ottenere valori lungo l'intero range di calibrazione del dosaggio e quindi dosati con il kit IMMULITE 2000 IL-6.

(Plastica EDTA) = 0,98 (Vetro per Siero) + 5,2 pg/mL

(Plastica Eparina) = 0,92 (Vetro per Siero) + 8,3 pg/mL

(Plastica SST) = 0,71 (Vetro per Siero) + 9,1 pg/mL

(Plastica per Siero) = 0,76 (Vetro per Siero) + 7,1 pg/mL

Valore medio:

186 pg/mL (Vetro per Siero)
188 pg/mL (Plastica EDTA)
180 pg/mL (Plastica Eparina)
142 pg/mL (Plastica SST)
148 pg/mL (Plastica per Siero)

Comparazione di Metodi 1: Il dosaggio è stato comparato ad un dosaggio disponibile in commercio per l'IL-6 (Kit A) su 109 campioni. (Range di concentrazione: circa da 3 a 300 pg/mL. Vedi grafico 1.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 0,80 (Kit A) + 0,97 pg/mL
r = 0,975

Valore medio:

100 pg/mL (IMMULITE 2000)
124 pg/mL (Kit A)

Comparazione di Metodi 2: Il dosaggio è stato comparato anche al dosaggio DPC IMMULITE IL-6 su 150 campioni. (Range di concentrazione: circa da 3 a 870 pg/mL. Vedi grafico 2.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 1,08 (IML) - 3,8 pg/mL
r = 0,994

Valore medio:
215 pg/mL (IMMULITE 2000)
203 pg/mL (IMMULITE)

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 2000 IL-6

Utilização: Para utilização no diagnóstico *in vitro* com o Analisador IMMULITE 2000 – para o doseamento quantitativo da interleuquina 6 (IL-6) no soro, plasma com EDTA ou heparinizado, como auxiliar no estudo de doenças inflamatórias.

Números de catálogo:

L2K6P2 (200 testes)

Código do teste: **I6** Cor: **Verde escuro**

Sumário e explicação do teste

A interleuquina-6 (IL-6) é um mediador do sistema imunológico, com uma ampla variedade de ações biológicas. É também conhecida como factor estimulante da célula B (BCSF), factor 2 de estimulação da célula B (BSF-2), factor de crescimento de hibridoma (HGF), factor estimulante de hepatócitos (HSF), factor de diferenciação citolítico, para linfócitos T (CDF) e muitos outros.

A IL-6 cDNA é uma codificação para um polipeptídeo composto por 212 aminoácidos. Esta proteína é clivada até tornar-se numa proteína amadurecida de 184 aminoácidos. Devido a diferentes graus de glicosilação – nas posições 73 e 172, respectivamente – e fosforilação, a IL6 tem um peso molecular que varia entre 21,5 e 28 KDA.

Muitas células diferentes têm capacidade para sintetizar a IL-6 incluindo monócitos/macrófagos, fibroblastos, células endoteliais, queratinócitos, mastócitos, células T e muitas linhas de células tumorais. *In vitro* e *in vivo*, a IL-6 actua como um factor de diferenciação para células B e um factor de activação para células T. Na presença da IL-2,

desencadeia a diferenciação de células T para células T citotóxicas e induz a proliferação de timócitos. Após estimulação com IL-4, é necessário um estímulo de IL-6 para que as células B se diferenciem, transformando-se em células plasmáticas secretoras de Ig. A IL-6 é um potente factor de crescimento de diferentes mielomas humanos e é activa em concentrações inferiores a 10 pg/mL. A IL-3 e a IL-6 mostram efeitos sinérgicos *in vitro* na diferenciação de células progenitoras hematopoiéticas.

Níveis elevados de IL-6 no plasma ou no soro podem ocorrer em diferentes doenças incluindo sepsia, doenças autoimunes, linfomas, SIDA, doença hepática alcoólica e em pacientes com infecções, ou rejeição a transplantes.

Princípio do Procedimento

O IMMULITE 2000 IL-6 é um ensaio imunométrico sequencial quimioluminescente de fase sólida, marcado com enzimas.

Ciclos de incubação: 2 × 30 minutos.

Colheita

Recomenda-se a utilização de uma ultra centrífuga para clarificar as amostras lipémicas.

As amostras hemolisadas podem indicar tratamento incorrecto de um espécimen antes da sua recepção pelo laboratório; assim, os resultados devem ser interpretados de forma cautelosa.

A centrifugação de amostras de soro antes de completada a formação de um coágulo pode resultar na presença de fibrina. A fim de prevenir resultados errados devido à presença de fibrina, certifique-se de que o coágulo ficou completamente formado antes da centrifugação das amostras. Algumas amostras, em especial as de doentes sujeitos a terapia anticoagulante, podem necessitar de mais tempo para a formação do coágulo.

Os tubos de colheita de sangue de diferentes fabricantes podem produzir valores diferentes, dependendo dos materiais e aditivos dos tubos, incluindo barreiras de gel ou físicas, activadores de coagulação e/ou anticoagulantes. O IMMULITE 2000 IL-6 não foi ensaiado

com todas as variantes possíveis de tipos de tubos. Consultar a secção sobre Tipos Alternativos de Amostras para mais informações sobre os tubos que têm sido ensaiados.

Volume de Amostra: 100 µL de soro, plasma heparinizado ou com EDTA.

Armazenamento: 1 dia a 2–8°C, ou 6 meses a –20°C.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Reagentes: Armazenar a 2–8°C. Eliminar de acordo com a legislação aplicável.

Observar todas as precauções e manipular todos os componentes como potenciais transmissores de agentes infecciosos. As matérias primas obtidas a partir de soro humano foram testadas, revelando-se como não reactivas à sífilis, aos anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV 1 e 2); ao antigénio de superfície da hepatite B e aos anticorpos 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: Evitar contaminação e exposição à luz directa do sol (ver literatura inclusa).

Água: Utilizar água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto indivisível. As etiquetas no interior da caixa são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de IL-6 (L26P12)

Com código de barras. 200 esferas, revestidas com anti-IL-6 murino monoclonal. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2K6P2: 1 embalagem.

Embalagem de reagente de IL-6 (L26PA2)

Com código de barras. Contém 18,5 mL de uma matriz proteica tamponada e 18,5 mL de fosfatase alcalina (intestino de

bezerro) conjugada com anti-IL-6 policlonal de carneiro em tampão, com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2K6P2: 1 embalagem.

Antes de utilizar, destacar a parte de cima da etiqueta pelo ponteador, sem danificar o código de barras. Remover o selo de alumínio da parte de cima da embalagem e encaixar a tampa deslizante nas ranhuras da tampa dos reagentes.

Ajustes IL-6 (L6PL, L6PH)

Contém dois frascos (Alto e Baixo) de IL-6 liofilizada numa matriz proteica tamponada, com conservante.

Reconstituir cada frasco com **3,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misturar com movimentos lentos ou por inversão suave até o material liofilizado estar completamente dissolvido. Estável a 2–8°C, durante 3 dias após a reconstituição ou durante 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2K6P2: 1 conjunto.

Antes de realizar qualquer rectificação, colocar as etiquetas da alíquota apropriadas (fornecidas com o kit) nos tubos de ensaio de forma a que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura incorporado.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Multidiluinte 2 (L2M2Z, L2M2Z4)

Para a diluição de amostras de paciente no aparelho. Um frasco de uma matriz proteica tamponizada não humana concentrada (pronta a usar), com conservante. Estável a 2–8°C durante 30 dias depois de aberto ou durante 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2M2Z: 25 mL. **L2M2Z4:** 55 mL.

São fornecidas etiquetas de códigos de barras para utilização com o diluinte.

Antes de usar, colocar uma etiqueta apropriada num tubo de ensaio de 16 x 100 mm, de forma a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo incorporado.

L2M2Z: 3 etiquetas **L2M2Z4:** 5 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminescente

L2PWSM: Lavagem de sonda

L2KPM: Kit de limpeza da sonda

LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)

L2ZT: 250 Tubos de ensaio de diluinte

da amostra (16 × 100 mm)
L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluente da amostra

LILCM: Um Módulo de Controlo de Citoquina IMMULITE de dois níveis baseada em soro humano contendo IL-6.

Também necessário
Água destilada ou desionizada; tubos de ensaio; controlos.

Procedimento de doseamento

De notar que para um óptimo desempenho, é importante realizar todos os procedimentos de manutenção de rotina definidos no Manual de Operador do IMMULITE 2000.

Consultar o Manual de Operador do IMMULITE 2000 para os procedimentos de preparação, instalação, diluições, rectificação, ensaio e controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável:
2 semanas.

Amostras de controlo de qualidade:
Utilizar controlos ou pools de amostras com pelo menos dois níveis (alto e baixo) de IL-6.

Valores Esperados

Foi realizado um estudo de gama de referência do IMMULITE 2000 IL-6 em amostras de soro colhidas de 60 voluntários saudáveis para tubos de soro em vidro liso. O intervalo inferior não paramétrico dos 95% registou-se entre não detectável e 3,4 pg/mL. O intervalo absoluto registou-se entre não detectável e 5,9 pg/mL.

Estes valores limite devem ser considerados apenas como directrizes. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores de referência.

Limitações

Os anticorpos heterofílicos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes nos componentes do 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 por rotina a produtos animais ou de soro

animal podem demonstrar este tipo de interferência, causando potencialmente um resultado anómalo. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interações entre soros (raros) e componentes do ensaio. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre utilizados em combinação com o exame clínico, história médica do paciente e outros resultados.

Características do Ensaio

Consultar as Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do ensaio. Os resultados são apresentados em pg/mL. (Salvo referência em contrário, todos os valores foram obtidos a partir de amostras de soro colhidas em tubos sem barreiras de gel nem aditivos promotores da coagulação.)

Gama de Calibração: Até 1 000 pg/mL
NIBSC 1st IS 89/548 (IU/mL):
IU/mL = 0,1 × pg/mL

Sensibilidade Analítica: 2 pg/mL

Efeito Hook de Alta Dose: Nenhum até 60 000 pg/mL.

Precisão: As amostras foram repetidamente submetidas a ensaio em duplicado ao longo de vários dias, num total de 40 séries e 80 réplicas. (Consultar a tabela "Precisão".)

Linearidade: As amostras foram submetidas a ensaio sob várias diluições. (Ver tabela "Recuperação" para dados representativos.)

Recuperação: Foram submetidas a ensaio amostras adicionadas na proporção de 1 para 19 com três soluções de IL-6 (1 000, 4 000, e 8 000 pg/mL). (Ver tabela "Recuperação" para dados representativos.)

Especificidade: O anticorpo é altamente específico para IL-6. (Ver tabela de "Especificidade".)

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

Hemólise: A presença de hemoglobina em concentrações até 550 mg/dL não tem qualquer efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipémia: A presença de triglicéridos em concentrações até 3 000 mg/dL não tem qualquer efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: Para determinar o efeito de tipos alternativos de amostras, foi colhido sangue a 12 voluntários para tubos de soro de vidro e de plástico lisos, tubos de plástico heparinizados e com EDTA, e tubos de plástico (SST[®]) com barreira de gel. Todos os tubos eram da Becton Dickinson. A volumes iguais das amostras correspondentes foram adicionadas várias concentrações de IL-6, para obter valores ao longo da gama de calibração do ensaio, e sendo então as amostras submetidas a ensaio pelo processo do IMMULITE 2000 IL-6.

(EDTA em plástico) = 0,98 (Soro em vidro) + 5,2 pg/mL

(Heparina em plástico) = 0,92 (Soro em vidro) + 8,3 pg/mL

(SST em plástico) = 0,71 (Soro em vidro) + 9,1 pg/mL

(Soro em plástico) = 0,76 (Soro em vidro) + 7,1 pg/mL

Médias:

186 pg/mL (Soro em vidro)

188 pg/mL (EDTA em plástico)

180 pg/mL (Heparina em plástico)

142 pg/mL (SST em plástico)

148 pg/mL (Soro em plástico)

Comparação de Métodos 1: O ensaio foi comparado com um ensaio disponível no mercado para IL-6 (Kit A) em 109 amostras de paciente. (Gama de concentração: aproximadamente de 3 a 300 pg/mL. Consultar o gráfico 1.) Por regressão linear:

(IML 2000) = 0,80 (Kit A) + 0,97 pg/mL
r = 0,975

Médias:

100 pg/mL (IMMULITE 2000)

124 pg/mL (Kit A)

Comparação de Métodos 2: O ensaio foi também comparado com o IMMULITE IL-6 da DPC em 150 amostras de paciente. (Gama de concentração: aproximadamente de 3 a 870 pg/mL. Consultar o gráfico 2.) Por regressão linear:

(IML 2000) = 1,08 (IML) – 3,8 pg/mL
r = 0,994

Médias:

215 pg/mL (IMMULITE 2000)

203 pg/mL (IMMULITE)

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

2005-04-05

PIL2K6P – 8



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