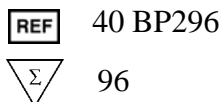




ELEGANCE

TROUSSE IGFBP-2 ELISA



FRANÇAIS



GARANTIE

Le fabricant garantit expressément que la trousse diagnostique contrôle le mélange à analyser lorsqu'il est utilisé selon les instructions imprimées du fabricant. L'emploi de la trousse diagnostique à toutes autres fins est en dehors de l'utilisation envisagée de ce produit et est aux risques de l'utilisateur.

Le fabricant nie toute responsabilité et garantie implicite de qualité marchande, ainsi que toute forme de capacité d'utilisation ou utilité implicite à toutes autres fins. Tous les autres dommages dus à une défaillance de la trousse diagnostique concernant les conditions de ses instructions se limitent à la valeur de remplacement de la trousse. La seule responsabilité de Bioclone Australia Pty Limited et de ses distributeurs se limite soit au remplacement du produit ou au remboursement du prix d'achat. Bioclone Australia Pty Limited n'est pas responsable pour les dommages causés à la propriété, ni pour les blessures personnelles ou pour les pertes économiques provoquées par les produits.

Fabriqué par Bioclone Australia Pty Limited

(une filiale de Hitachi Chemical Co, Ltd) ABN 14 002036 071
71-73 Railway Parade Marrickville NSW AUSTRALIA 2204

Tél.:+61 (0) 2 95171966 Télécopieur +61 (0) 2 9517 2990 Appel gratuit 1.800 251 138

Courrier électronique sales@bioclone.com.au Web www.bioclone.com.au



Hitachi Chemical Diagnostics Inc.

Hitachi Europe Limited, Whitebrook Park, Lower Cookham Road
Maidenhead, Berkshire, SL6 8YA, UK. Phone: +44 1628 585 591

UTILISATION PRÉVUE

La trousse **ELEGANCE IGFBP-2 ELISA** a été conçue pour l'évaluation quantitative *in vitro* de la protéine-2 de liaison aux facteurs de croissance semblables à l'insuline (IGFBP-2) dans le sérum.

PRINCIPES DE LA TROUSSE ELEGANCE ELISA

ELEGANCE ELISA est un principe de dosage immunologique lié à l'enzyme, incorporant un anti-IGFBP-2 polyclonal de lapin (réactif anticorps) et l'IGFBP-2 biotinylé (réactif conjugué). Un polyclonal anti-lapin est lié aux micropules comme un anticorps de capture. Les échantillons sont pré-dilués à 1:25 avec le Calibrateur A. La trousse est un dosage par compétition entre le calibrateur ou l'échantillon IGFBP-2 et la biotine marquée IGFBP-2. Après une incubation d'une nuit avec l'anticorps, les micropules sont lavées pour enlever tout matériel non lié. La streptavidine-peroxydase (Réactif

d'amplification) est ajouté et se lie aux anticorps biotinylés à plusieurs endroits. Après le lavage, la Solution de Substrat réagit avec toute peroxydase liée pour produire de la couleur en proportion directe avec la quantité de l'échantillon antigène qui peut être calculé par la courbe du calibrateur.

RÉACTIFS ELEGANCE FOURNIS, STABILITÉ ET RANGEMENT

Taille de la trousse - 96 tests. La trousse et toutes ses composantes non ouvertes ou ouvertes devraient

être rangées à 2-8°C jusqu'aux dates d'expiration énumérées.

IGFBP-2:

Micropules enrobées

96 cupules REF # BP2A96
Support contenant des micropules enrobées avec de l'anticorps anti-IGFBP-2. Prêt à être utilisé.

IGFBP-2:

Réactif d'anticorps

1 fiole REF # BP2B96
2.5 mL d'anticorps IGFBP-2 dans une solution tampon contenant du sérum bovin albumine, du sérum sanguin et une teinture bleue. Contient du Bronidox L, 0.2% v/v et du thimérosal, 0.02% w/v. Prêt à l'utilisation.

IGFBP-2: Réactif

d'amplification

1 fiole REF # BP2P96
10 mL de peroxydase streptavidine (streptavidine de *S. avidinii*) dans une solution contenant du sérum bovin albumine et une teinture violette. Contient du Bronidox L, 0.2% v/v et du thimérosal, 0.02% w/v. Prêt à utiliser.

IGFBP-2:

Réactif conjugué

1 fiole REF # BP2C96
2.5 mL d'anticorps biotinylés anti-IGFBP-2 dans une solution tampon contenant du sérum bovin albumine et une teinture rouge. Contient du Bronidox L, 0.2% w/v et thimérosal, 0.02% w/v. Prêt à l'utilisation.

Concentré de lavage

1 fiole REF # EWC96
50 mL d'une solution de lavage concentrée 1 dans 15 fois. Contient du thimérosal, 0.09% w/v. À diluer avant l'utilisation.

Solution de substrat TMB N

1 fiole REF # TMBB96

10 mL 3,3', 5,5' -

tétraméthylbenzidine (TMB) et de la peroxydase d'hydrogène dans une solution stabilisante. Prêt à l'utilisation.

IGFPP-2:

Calibrateurs/ Contrôle

1 fiole REF # EBP2S1

5 fioles REF # EBP2S2-6

1 fiole REF # EBP2C1

20 mL de Calibrateur A (0 ng/mL concentré), concentrée 1 dans 4 fois BSA et PBS solution.

À diluer avant l'utilisation.

0.5 mL dans les Calibrateurs 2-6 et Contrôle 1 chaque dans 1% de BSA et PBS. Contient de Thimérosal, 0.01% w/v et du Bronidox L, 0.2% w/v.

Lyophilisé.

PRÉCAUTIONS ET

AVERTISSEMENTS AUX

UTILISATEURS

La manipulation des spécimens et des composantes de la trousse, leur utilisation, rangement et mise au rebut doit être conforme aux procédures ou règlements de sécurité des laboratoires nationaux ou locaux.

Spécimens et calibrateurs

Le matériel source des calibrateurs a été vérifié par une méthode agréée approuvée pour la présence de l'antigène de contact d'hépatite B, de l'anticorps à l'hépatite C et de l'anticorps au HIV (virus de l'immunodéficience humaine) - 1/2 (SIDA :Syndrome de l'immunodéficience acquise) et ont été trouvés comme étant non réactives pour tous. Il est cependant recommandé que tous les spécimens soient manipulés comme pouvant transmettre une maladie infectieuse.

Agents de conservation

La trousse contient du thimérosal et du Bronidox L comme agents de conservation. Puisque les réactifs contiennent des agents de conservation potentiellement toxiques, il faut utiliser le plus grand soin en la manipulant, en évitant l'ingestion ou le contact avec la peau.

Substrat

Évitez le contact avec la peau.

COLLECTION DE SPÉCIMENS ET MANIPULATION

Aucune préparation spéciale du patient n'est requise. Les spécimens peuvent être soit du sérum recueilli de façon appropriée pour les tests de laboratoire. Éviter les spécimens troubles, hémolytiques ou porteurs d'hyperlipémie.

Les spécimens peuvent être rangés à 2-8° pour une période de temps allant jusqu'à 48 heures. Les spécimens gardés pour une plus longue période devraient être rangés à une température de -20°C ou plus bas. Les spécimens ne doivent pas être gelés et décongelés de façon répétée. Les spécimens décongelés devraient être contrôlés pour le flocculat et mélangés par inversion immédiatement avant le contrôle.

Les spécimens troubles ou contenant des particules devraient être centrifugés avant l'utilisation.

MATÉRIAUX ET ÉQUIPEMENT REQUIS MAIS NON FOURNIS

- * Eau distillée ou déminéralisée
- * 2M HCl
- * Pipettes de précision
- * Pipette de répétition
- * Cylindre de mesure 1L
- * Tissu absorbant (non ouaté)
- * Chrono régulateur
- * Mélangeur Vortex
- * Agitateur de plaque de microtitre
- * Laveur de plaque de microtitre
- * Système de lecteur de plaque de microtitre

REMARQUE DE

PROCÉDURE

Porter tous les réactifs et les échantillons à la température de la pièce (20-25°C) et mélanger par une inversion modérée avant l'utilisation. Les duplications sont recommandées.

La contamination des réactifs portera à un mauvais rendement. Il faut faire une courbe de calibrateur à chaque dosage biologique. Les spécimens suspects d'avoir des concentrations au-dessus du calibrateur le plus élevé devraient être dilués dans le calibrateur zéro avant le dosage.

Toutes les étapes du dosage devraient se dérouler sans interruption, mais si les cupules ne peuvent se remplir avec du Réactif d'amplification ou de la Solution de Substrat immédiatement après le lavage, on peut alors laisser les micropules renversées sur un tissu absorbant non ouaté pour au maximum 15 minutes. Les réactifs sont assortis dans chaque trousse et par conséquent, les réactifs appartenant à différents numéros de lot ne devraient pas être mélangés.

Le photomètre et toutes les pipettes utilisées devraient être calibrées d'une façon appropriée avant l'utilisation.

Lavage

L'efficacité de l'étape de lavage est vitale pour une bonne précision. Il faut laver les micropules en utilisant un laveur de plaque automatique. Éviter le débordement d'une cupule à l'autre.

Contrôle de la qualité

Il faut faire un contrôle des spécimens dans chaque dosage pour assurer une bonne procédure. Les valeurs de contrôle doivent se situer à l'intérieur de l'étalonnage du laboratoire avant que le dosage ne soit approuvé.

PROCÉDURE DE DOSAGE

Préparation des réactifs

Solution de lavage
Diluer le concentré de lavage dans une proportion de 1 pour 15 dans de l'eau déminéralisée. La solution de lavage peut être rangée à la température de la pièce (20-25°C) pendant 12 semaines.

Calibateurs et contrôles

Pour reconstituer les calibateurs lyophilisés, ajouter le volume d'eau distillée indiqué sur chaque étiquette des fioles. Laisser reposer les fioles jusqu'à ce que le liquide soit complètement dissout, (au moins 30 minutes) et ensuite mélanger doucement par inversion.

Les concentrations exactes et la gamme déterminées lot par lot sont indiquées sur une étiquette séparée à l'intérieur de la trousse. Après reconstitution, les calibrateurs doivent être rangés à -20°C pour une période allant jusqu'à 4 semaines.

Procédure de dilution

Calibrateur A

Concentré 0 ng/mL

Diluer le Calibrateur A dans une proportion de 1 pour 4 dans de l'eau déminéralisée. Si le calibrateur A s'est cristallisé, chauffer à 37°C. La solution du Calibrateur A est aussi utilisée comme l'échantillon diluant et peut être rangé à 2-8°C jusqu'à la date d'expiration écrite.

Préparation de l'échantillon

Les échantillons (non les calibrateurs/contrôles) devraient être dilués dans une proportion de 1 pour 25.

- Étiquetez les tubes de dilution (1 par échantillon).
- Pipette 10 µL d'échantillon ajouter avec l'aide d'une pipette 250 µL de diluant de calibrateur A. Vortex.

Protocole

1. Assembler les micropules dans le support selon le nombre de tests requis. Envelopper et retourner les cupules inutilisées à 2-8°C.

2. Ajouter avec l'aide d'une pipette 50 µL d'échantillon (calibrateur, contrôle et spécimen) en double dans les cupules appropriées. Le temps employé pour préparer les échantillons ne devrait pas excéder 20 minutes.

3. Ajouter avec l'aide d'une pipette 25 µL de réactif conjugué IGFBP-2 (rouge) dans toutes les cupules.

4. Ajouter avec l'aide d'une pipette 25 µL de réactif anticorps IGFBP-2 (bleu) dans toutes les cupules.

5. Couvrir les micropules avec un couvercle et laisser incubé pendant toute la nuit

(16-24 heures), immobiles, à la température de la pièce (20-25°C).

6. Après l'incubation, laver les micropules. Aspirez le liquide et rincer chaque cupule 4 fois avec 250 µL de solution de lavage. Après le dernier lavage, renverser les micropules et tapotez légèrement sur du tissu absorbant pour enlever tout restant de solution de lavage. S'assurer qu'il ne reste aucune bulle d'air dans les cupules.

7. Ajouter avec l'aide d'une pipette 100 µL de solution de réactif d'amplification IGFBP-2 (violet) dans toutes les cupules.

8. Couvrir les micropules avec le couvercle et incubez pour 10 minutes sur un agitateur de plaque à la température de la pièce (20-25°C).

9. Après l'incubation, répéter l'étape de lavage.

10. Ajouter à l'aide d'une pipette 100 µL de solution de substrat préparé dans toutes les cupules. Le temps employé par l'étape d'incubation est mesuré par l'addition de solution de substrat dans la première cupule.

11. Couvrir les micropules avec le couvercle et incubez pour 5 minutes sur un agitateur de plaque à la température de la pièce (20-25°C).

12. Ajouter avec l'aide d'une pipette 50 µL de 2M HCl dans toutes les cupules à l'intérieur d'une séquence de temps identique que celle utilisée dans l'addition de la solution de substrat.

13. Procéder à une lecture du point final à 450 nm et traiter les données tel que décrites dans le manuel de l'utilisateur du lecteur de microplaque. Cette étape de lecture doit être exécutée dans un laps de temps ne dépassant pas 30 minutes de l'immobilisation de la réaction.

CALCUL DES RÉSULTATS

Le calcul des résultats peut être effectué manuellement s'il n'y a pas de réduction de données automatique. Déterminer la densité optique de chaque cupule.

Tracer la courbe du calibre sur un papier graphique logarithmique avec la concentration des calibrateurs sur l'axe des x et la densité optique sur l'axe des y. La courbe peut être dessinée point par point ou dans une courbe

d'ajustement systématique comme par exemple une interpolation spline. Interpoler les valeurs de l'échantillon de la densité optique mesurée par cette courbe de calibrateur.

Enregistrer l'échantillon dans ng/mL IGFBP-2.

Calibreurs prêt à l'utilisation 1 dans 26.

L'étendue de l'ELEGANCE

IGFBP-2 ELISA est de 0 à environ 3000 ng/mL, mais la concentration maximum qui peut être rapportée est limitée par les caractéristiques de la performance linéaire du photomètre utilisé.

Si la valeur de la densité optique du calibrateur le plus haut est au-dessus de l'étendue du photomètre, alors ce calibrateur doit être omis du tracé de la courbe du calibrateur.

CALCUL DE MODÈLES

Endpoint Data

ID	Ave OD	IGBP-2 (ng/mL)
0	2.171	
82.7	1.786	
262	1.287	
529	0.839	
1226	0.531	
2766	0.321	
Control 1	0.779	642.0

CALIBRATION

Les calibrateurs fournis dans cette trousse sont calibrés et marqués en ng/mL, en référence à primary material, quantitated by amino acid analysis.

Pour convertir en nmol/L, utiliser:

$$\text{nmol/L} = \frac{\text{ng/mL}}{0.0321}$$

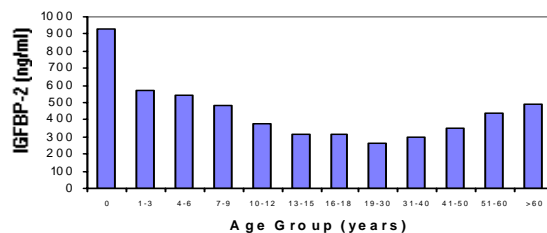
LIMITATIONS

Les spécimens de sérum montrant une opacité, une hémolyse brute ou une hyperlipidémie brute pourraient donner de faux résultats.

VALEURS ATTENDUES

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre étendue de référence selon l'échantillon de la population représentée. L'étendue de référence suivante, a été obtenue en analysant des échantillons de sérum provenant d'individus en santé et est donnée comme guide seulement:

Combined (M & F) Normal Range (IGFBP-2) (n=537)



CARACTÉRISTIQUES DE LA PERFORMANCE

Précision intra-dosage

Échantillon	n	Moyenne ± 2SD (ng/mL)	% CV
1	19	156 ± 32	10.2
2	19	585 ± 65	5.5
3	19	1567 ± 221	7.1

Précision inter-dosage

Échantillon	n*	Moyenne ± 2SD (ng/mL)	% CV
1	18	113 ± 22	9.7
2	18	684 ± 118	8.6
3	18	1313 ± 182	6.9

*en duplicata

Spécificité

Mélange à analyser	Concentration analysée	X réactivité
IGFBP-1	130 µg/mL	non détectable
IGFBP-3	130 µg/mL	non détectable
IGFBP-4	130 µg/mL	non détectable
IGFBP-5	130 µg/mL	non détectable
IGFBP-6	130 µg/mL	non détectable
IGF-1	130 µg/mL	non détectable
IGF-11	130 µg/mL	non détectable
GH	11 µg/mL	non détectable

Précision

La récupération a été calculée par le dosage avant et après l'addition d'un mélange à analyser hexogène.

Échantillon	IGFBP-2 (ng/mL)		% récupération
	Observé	Attendu	
1	125	121	103.0
2	270	282	96.3
3	934	910	103.0
4	1457	1520	95.7

Dilution

Un échantillon a été dilué dans le calibrateur zéro, le calcul du dosage et de la récupération a été fait.

Échantillon	IGFBP-2 (ng/mL)		% récupération
	Observé	Attendu	
Net	1866		
1/2	1039	933	111.4
1/4	467	467	100.0
1/8	221	233	94.9

Sensibilité

La sensibilité du dosage est typiquement moins de 10 ng/mL. En terme de concentration réelle de IGFBP-2, la sensibilité est typiquement moins de 0.4 ng/mL. La sensibilité est définie comme cette concentration du mélange à analyser correspondant à la réponse de dosage variable (densité optique) qui est de deux déviations standard plus grandes que la réponse de la dose moyenne variable de 8 déterminations répliquées du calibrateur zéro dans les trois dosages différents.

Interférence

Aucune interférence avec la récupération du mélange à analyser n'a été observée pour les concentrations de l'hémoglobine jusqu'à 250 mg/dL, de la bilirubine jusqu'à 10 mg/dL et du triglycéride jusqu'à 970 mg/dL.

INFORMATIONS POUR PASSATION DE COMMANDE

ELEGANCE IGFBP-2 ELISA est fabriqué par :

Bioclone Australia Pty Limited,
 71-73 Railway Parade, Marrickville, NSW 2204, AUSTRALIE
 Téléphone: +61 (0) 2 9517 1966 Appel gratuit 1800 251 138
 Télécopieur : +61 (0) 2 9517 2990

Courrier électronique : sales@bioclone.com.au

Web : www.bioclone.com.au

SERVICE TECHNIQUE

Un service technique complet est disponible en appelant Bioclone à +61 (0) 2 9517 1966 Appel gratuit 1800 251 138