



BIOCLONE

ELEGANCE

TROUSSE hCG ELISA

REF 40 420096

Σ 96

FRANÇAIS



GARANTIE

Le fabricant garantit expressément que la trousse diagnostique contrôle la présence de IgA (immunoglobuline A) mesure le mélange à analyser désigné uniquement lorsqu'il est utilisé selon les instructions imprimées par celui-ci. 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 envers 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 hCG ELISA a été conçue pour l'évaluation qualitative ou quantitative *in vitro* de l'état de la gonadotrophine chorionique humaine (hCG) dans le sérum ou le plasma.

PRINCIPES DE ELEGANCE ELISA

ELEGANCE ELISA est un dosage immuno-enzymatique. L'échantillon antigène est en quelque sorte "moisé" entre l'anticorps lié au micropule et le réactif anticorps biotinylé. Les micropules sont lavés pour enlever toute matière déliée. Le streptavidine-péroxydase (réactif d'amplification) est ajouté et se lie à l'anticorps biotinylé à plusieurs sites. Après le lavage, la solution de substrat réagit avec toutes les liaisons peroxydases afin de produire de la couleur en proportion directe avec la quantité de l'échantillon antigène, qui se calcule par la courbe du calibre (ou comparée qualitativement avec une Référence Positive).

ELEGANCE DOTÉE DE RÉACTIFS, DE STABILITÉ ET DE STOCKAGE

Dimension de la trousse : 96 tests. La trousse et toutes ses composantes devraient être rangées à une température de 2-8° C jusqu'aux dates limites inscrites sur la liste.

Micropules revêtue de hCG

96 cupules REF # CGA 96
Cadre contenant des microcupules revêtues d'anticorps anti-hCG. Prêt à utiliser.

hCG: Réactif anticorps

1 fiole REF # CGB96
10 mL d'anticorps anti-hCG biotinylé dans une solution tampon contenant du sérum albumine de bovin, des sérums animaux non immunisaires et une teinture bleue. Il contient de l'acide de sodium, (NaN₃), 0,2% w/v et thimérolal, 0,01% w/v. Prêt à utiliser.

hCG: Réactif d'amplification

1 fiole REF # CGP96
10 mL de streptavidine-péroxydase (streptavidine de *S.avidinii*) dans une solution tampon contenant sur du sérum albumine de bovin et une teinture violette. Contient du Bromidox L, 0,2% v/v et thimérolal, 0,02% w/v. Prêt à utiliser.

Concentré de lavage

1 vial REF # EWC96

50 mL d'une solution de lavage concentrée 15 x. Contient du thimérolal, 0,09% w/v.

À diluer avant l'utilisation.

Tampon de substrat

1 fiole REF # ESB20

20 mL de peroxyde d'urée dans un tampon de citrate-phosphate. Contient du thimérolal, 0,01% w/v.

Tablettes de substrat

1 fiole REF # EST4

Pastilles de o-phénylènediamine (OPD) 4 x 4 avec des constituants inertes.

hCG: Calibrateurs

6 fioles REF # ECGS1-6

hCG: Référence positive

1 fiole REF # ECGR

2,0 mL dans le Calibre A et 0,5 mL dans le Calibre B-F et une Référence Positive chacune dans le sérum de bovin. Contient NaN₃, 0,1% w/v. Lyophilisé.

PRÉCAUTIONS ET AVERTISSEMENT AUX UTILISATEURS

La manipulation des spécimens et des composantes de la trousse, leur utilisation, leur rangement et leur élimination doivent être faits en fonction des procédures ou règlements de sécurité des laboratoires nationaux ou locaux.

Spécimens, calibreurs et Références Positives

Les matières brutes des calibreurs et les Références Positives ont été contrôlées 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 - 1/2 (AIDS) et a été trouvé comme étant non réactif pour tous. Il est cependant recommandé que tous les spécimens soient manipulés comme capable de transmettre une maladie infectieuse.

Agents de préservation

La trousse contient de l'aCide de sodium, du thimérolal et du Bromidox L comme agents de préservation. Puisque les réactifs contiennent des agents de préservation potentiellement toxiques, il faut être prudent en les manipulant, afin d'en éviter l'ingestion ou le contact avec la peau. L'aCide de sodium pourrait réagir avec la robinetterie en plomb et en cuivre en formant des azides potentiellement explosifs.

Substrat

Éviter tout contact avec la peau.

COLLECTION DE SPÉCIMENS ET MANIPULATION

Aucune préparation spéciale du patient n'est requise. Les spécimens peuvent être soit de sérum ou de plasma recueillis de façon appropriée pour les tests de laboratoire. Le sérum est préféré, cependant les anticoagulants hépariniques ou EDTA (acide éthylènediamine-tétracétique) peuvent être employés sans nuire à l'exactitude. Éviter les spécimens troubles, hyperlipémiques et hémolytiques. Les spécimens peuvent être rangés à une température de 2-8 C° pour une période 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
- * 1M H₂SO₄
- * Pipette de précision
- * Pipette de répétition
- * Cylindre de mesure 1L
- * Tissus absorbant (antistatique - non ouaté)
- * Chrono-régulateur
- * Agitateur-mélangeur Vortex
- * Agitateur de plaque de microtitration
- * Laveur de plaque à microtitration
- * Système de lecture de plaque de microtitration

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 conduire une courbe de calibre à chaque épreuve biologique. Les spécimens suspects d'une concentration au-delà du calibre le plus élevé devraient être dilués en calibre zéro avant l'essai biologique. Toutes les étapes de l'essai biologique doivent se faire sans interruption, mais si les cupules ne peuvent pas être remplies avec un réactif d'amplification ou une solution de substrat immédiatement après le lavage, les micropules peuvent alors être laissées renversées sur un linge 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 utilisés devraient être calibrés d'une façon appropriée avant l'utilisation.

Lavage

L'efficacité de l'étape du lavage est vitale pour une bonne précision. Les micropules sont lavées en utilisant un lave-plaques. Évitez le débordement d'une micropule à une autre.

Contrôle de la qualité

Il faudrait utiliser les échantillons-témoins à chaque essai pour s'assurer d'une correcte procédure. Le contrôle des valeurs doit être compris à l'intérieur de l'échelle des valeurs de laboratoire avant que l'essai 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) pour une période de 12 semaines.

Solution de substrat

Il est recommandé de préparer ce réactif immédiatement avant l'utilisation. Placez le nombre indiqué de pastilles OPD dans la quantité requise de tampon de substrat. Ajouter une pastille pour 5 mL. Après que la pastille est complètement dissoute (1-2 minutes) et que les bulles ont disparues, replacer le bouchon sur la bouteille et mélanger par inversion. Éviter un fort éclairage. La solution de substrat doit être utilisée à l'intérieur d'une période de temps de 30 minutes de la préparation.

Calibreurs et référence positive

Afin de reconstruire les calibreurs lyophilisés et la référence positive, ajouter le volume d'eau déminéralisée indiqué sur chaque étiquette d'ampoule. Laisser les ampoules en repos jusqu'à ce que le tout soit complètement dissout (au moins 30 minutes) est ensuite mélanger doucement par inversion. Les concentrations exactes par lot sont spécifiées sur une étiquette séparée à l'intérieur de la trousse. Après la reconstitution, les calibreurs / référence positive peuvent être rangés à une température de -20°C pour une période allant jusqu'à 4 semaines.

Protocole

Pour le test quantitatif, préparez un calibre de courbe complet. Pour le test qualitatif, n'utilisez que le Calibre A (contrôle négatif), la Référence Positive et le Calibre E (contrôle positif).

1. Assembler les micropules dans la structure 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 (calibre, référence positive, contrôle, spécimen) en double dans les cupules appropriées. Le temps utilisé pour préparer les échantillons ne devrait pas dépasser 20 minutes.
3. Couvrir les micropules avec le couvercle et laisser incubé pour 5 minutes dans une plaque agitatrice-secoueuse à la température de la pièce (20-25°C).
4. Après l'incubation, laver les micropules. Aspirer le liquide et rincer chaque cupule 4 fois avec 250 µL de solution de lavage. Après le lavage final, renverser les micropules et fermer hermétiquement sur un tissu absorbant pour enlever toute solution de lavage restante. S'assurer que les bulles d'air ne restent pas dans les cupules.
5. Ajouter avec l'aide d'une pipette 100 µL de réactif anticorps hCG (bleu) dans toutes les cupules.
6. Couvrir les micropules avec un couvercle et laisser incubé pour 15 minutes sur une plaque agitatrice-secoueuse à la température de la pièce (20-25°C).
7. Après l'incubation, répéter l'étape de lavage.
8. Ajouter avec l'aide d'une pipette 100 µL de réactif d'amplification hCG (violet) dans les cupules.
9. Couvrir les micropules avec le couvercle et laisser incubé pendant 10 minutes sur un agitateur de plaque à la température de la pièce (20-25°C).
10. Après l'incubation, répéter l'étape de lavage.
11. Ajouter avec l'aide d'une pipette 100 µL de solution de substrat préparé dans toutes les cupules. Le calcul de l'étape d'incubation se mesure par l'addition de la solution de substrat dans la première cupule.
12. Couvrir les micropules avec le couvercle et incubé pour 5 minutes en les laissant reposer à la température de la pièce (20-25°C).
13. Ajouter avec l'aide d'une pipette 50 µL de 1M H₂SO₄ dans toutes les cupules à l'intérieur d'une même séquence à temps contrôlé comme pour l'addition de solution de substrat.

CALIBRATION

Les calibres fournis dans cette trousse sont étalonnés et étiquetés en IU/L, en référence au WHO 3e IS 75/537.

LIMITATIONS

Les spécimens de sérum montrant de l'hémolyse macroscopique, de l'hyperlipidémie macroscopique ou de l'opacité peuvent donner de faux résultats.

VALEURS ATTENDUES

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre étendue de référence selon un échantillon de population représentatif. Le hCG n'est pas sécrété chez les individus de sexe masculin normaux et en bonne santé, les individus de sexe féminin à l'âge de la post ménopause ou les femmes qui ne sont pas enceintes. Le champ de référence suivant a été obtenu en analysant des échantillons de sérum sanguin chez des femmes enceintes et est donné exclusivement comme guide: Nombres de semaines après.

la période menstruelle	Domaine de valeurs hCG (IU/L)
2 - 3	100 - 19400
4 - 5	78 - 48030
6 - 7	75 - 99410
8 - 12	5750 - 48200
> 12	10740 - 13470

14. Procéder à une lecture du paramètre ultime à 490 nm et traiter les données tel que décrit dans le manuel d'utilisation de lecture de la microplaque. Il faudrait procéder à cette étape de lecture à l'intérieur d'une période de 30 minutes de l'arrêt de la réaction.

CALCUL DES RÉSULTATS

Il est possible de procéder au calcul des résultats manuellement s'il n'y a pas de réduction de données automatiques. Déterminer la densité optique (DO) de chaque cupule.

Test quantitatif

Placer la courbe du calibre en utilisant la feuille du graphique logarithmique sur l'axe x et la densité optique (DO) sur l'axe y. La courbe doit être dessinée point par point ou une routine d'ajustement de la courbe, comme l'interpolation spline, peut être utilisée. Interpoler la valeur de l'échantillon de la densité optique (DO) mesurée de cette courbe du calibre. Enregistrer la valeur pour chaque échantillon dans IU/L hCG. Le champ de *ELEGANCE* hCG ELISA est de 0 à environ 500 IU/L, mais la concentration maximale qui peut être rapportée est limitée par les caractéristiques de la performance linéaire du photomètre utilisé. Si la valeur du DO du plus haut calibre est au-dessus de l'étendue du photomètre, alors il faut omettre ce calibre du schéma de la courbe du calibre.

Test qualitatif

Comparer l'échantillon DO avec la Référence Positive DO. Les résultats sont calculés en utilisant un % de la valeur de Référence Positive.

Négative	< 85%
Positive	> 100%
Valeur à la limite	85 - 100%

Dans les cas à la limite, un autre spécimen devrait être prélevé au patient après 48 heures et le test devrait être répété.

CALCULS DES MODÈLES

Données du point final

ID	Moyenne OD	hCG (IU/L)
0	0,036	
5	0,069	
15	0,141	
50	0,345	
150	0,985	
500	2,529	
Échantillon 1	0,116	11,6
Échantillon 2	0,227	28,5
Échantillon 3	0,845	128,6

CARACTÉRISTIQUES DE RENDEMENT

Précision intra dosage

Échantillon	n	Moyenne ± 2SD (IU/L)	%CV
1	16	8,0 ± 1,4	8,8
2	16	23,6 ± 2,6	5,5
3	16	58,7 ± 7,2	6,1

Précision inter dosage

Échantillon	n*	Moyenne ± 2SD (IU/L)	%CV
1	33	8,5 ± 2,0	11,8
2	33	25,7 ± 6,1	11,9
3	33	138,2 ± 22,0	8,0

* en duplicata

Spécificité

Mélange à analyser	Concentration Dosée	hCG apparent Résultat (IU/L)
hLH	177 IU/L	6,5
	88 IU/L	< 2
hFSH	165 IU/L	< 2
hTSH	1150 mIU/L	< 2

Précision

La récupération a été calculée par dosage avant et après l'addition de mélange à analyser exogène.

Échantillon	hCG (IU/L) Observé	hCG (IU/L) Attendu	% de récupération
1	8,7	8,9	97,8
2	25,6	25,5	100,4
3	41,0	40,0	102,5
4	158,7	159,7	99,4

Dilution

Un échantillon a été divisé dans un calibre zéro, dosé et sa récupération a été calculée.

Échantillon	hCG (IU/L) Observé	hCG (IU/L) Attendu	% de récupération
Net	130,3		
1/2	67,7	65,2	103,8
1/4	32,6	32,6	100,0
1/8	15,7	16,3	96,3

Haute dose à effet crochet

Dû à l'effet crochet caractéristique de l'essai pour les doses à haute concentration, les échantillons plus grands que 1,000,000 IU/L peuvent donner des résultats aberrants, moins que celle du plus haut calibre de la trousse. Ces échantillons doivent être dilués avec le calibre zéro et dosés de nouveau.

Sensibilité

La sensibilité de l'essai est typiquement moins de 2 IU/L.

La sensibilité est définie comme la concentration du mélange à analyser correspondant à la variable réponse de la dose (DO) qui est de deux écarts types plus grands que la variable réponse de la dose moyenne de 16 essais répétés de détermination de la course du calibre dans ces différents essais.

Interférences

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

INFORMATIONS POUR PASSATION DE COMMANDE

La trousse *ELEGANCE* hCG 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 ou Appel gratuit 1800 251 138

PARTIE No.: EKBHCGF 5e Édition -

Date de rév.: 14 Juillet 2006