



# ELEGANCE TROUSSE ELISA NEONATAL IRT

REF 40 500480

REF 40 502400

Σ 480

Σ 2400

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 9517 1966 Télécopieur +61 (0) 2 9517 2990 Appel gratuit 1800 251 138

Courrier électronique [sales@bioclone.com.au](mailto:sales@bioclone.com.au) Web [www.bioclone.com.au](http://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

ELEGANCE Neonatal IRT ELISA a été conçue pour l'évaluation quantitative in vitro de l'état du trypsinogène immunoréactif (IRT) dans le dépistage de caillots sanguins chez les nouveaux-nés humains.

## PRINCIPES DE ÉLÉGANCE ELISA

ELEGANCE ELISA est un dosage immuno-enzymatique. Le IRT est élué du caillot de sang et est intercalé entre les anticorps liés à la micropule et le réactif anticorps biotinylé. Les micropules sont lavées pour enlever tout le matériel non lié. La streptavidine-peroxydase (Réactif d'amplification) est ajouté et se lie à l'anticorps biotinylé à plusieurs sites. Après le lavage, la solution de substrat réagit avec tout peroxydase lié pour produire la couleur en proportion directe avec la quantité d'échantillon antigène qui peut être calculé par la courbe du calibrateur.

## RÉACTIFS ÉLÉGANCE

### FOURNIS, STABILITÉ ET RANGEMENT

Taille de la trousse - 480 tests et 2400 tests (en parenthèses). La trousse et toutes ses composantes, ouvertes ou non ouvertes, devraient être rangées à 2 - 8°C jusqu'aux dates d'expiration énumérées.

### Néonatal IRT:

#### Micropules enrobées

1 x 96 cupules REF ITA96

5 x 96 cupules REF ITA5

(25 x 96 cupules REF ITA25)

Support contenant les micropules enrobées de l'anticorps anti-IRT. Prêt à utiliser.

### Néonatal IRT:

#### Réactif anticorps

1 fiole REF ITB480

(1 fiole REF ITB25)

50 (250) mL anticorps biotinylé anti-IRT dans une solution tampon contenant de l'albumine de sérum bovin et une teinture bleue. Contient de l'azide de sodium, 0,1% w/v. Prêt à utiliser.

#### Néonatal IRT:

#### Réactif d'amplification

1 fiole REF ITP480

(1 fiole REF ITP25)

50 (250) mL de streptavidine peroxydase (streptavidine de S. avidinii) dans une solution tampon, contenant de l'albumine de sérum bovin et une teinture violette. Contient du Bronidox L, 0,2% v/v et du thiomersal, 0,02% w/v. Prêt à utiliser.

#### Concentré de lavage

1 fiole cat EWC5

(2 fioles Cat EWC25)

250 (500) mL d'une solution de lavage concentrée 15 fois.

Diluer avant l'utilisation.

#### Solution Stop de stabilisation

1 fiole Cat ESCL5

(1 fiole Cat ESCL25)

30 (124) mL 2M HCl

Prêt à utiliser

#### Solution de substrat TMB N

1 fiole Cat TMBB5

(1 fiole Cat TMBB25)

50 (250) ml 3,3', 5,5' - tétraméthylbenzidine et hydrogène peroxydase dans une solution de stabilisation. Prêt à utiliser.

### Néonatal IRT : Calibrateurs

Disponible à l'état:

6 fioles Cat EITS5

(2 x 6 fioles Cat EITS5)

0,5 mL chacune dans une solution tampon contenant BSA et une teinture jaune. Contient de l'acide de sodium 0,2% w/v et du thiomersal, 0,01% w/v. Lyophilisé.

Ou:

### Néonatal IRT : Caillots de sang Calibrateurs et Contrôles

1 ensemble Cat ETNS6

(4 ensembles Cat ETNS7)

Caillots de sang humain séché TSH avec 6 calibrateurs (A-F) et 2 contrôles (1-2) sur du papier filtre. Prêt à utiliser. (Un ultérieur Calibre Supérieur [nominale 1000 ug/L] et le Contrôle est disponible sur demande)

### 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 et calibrateurs

Les données initiales des contrôles ont été vérifiées 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 VIH (virus de l'immunodéficience humaine) 1/2 (SIDA : Syndrome de l'immunodéficience acquise) et ont été trouvées comme étant non réactives pour tous. Il est cependant recommandé que tous les spécimens soient manipulés comme pouvant transmettre une maladie infectieuse.

### Agents de préservation

La trousse contient de l'acide de sodium, du thiomersal et du Bronidox L comme agent 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 acides potentiellement explosifs.

### Solution de substrat et Solution

### stop stabilisante

Éviter le contact avec les yeux.

### COLLECTION DE

### SPÉCIMENS ET MANIPULATION

Elisa IRT Néonatal ELEGANCE est conçu pour l'utilisation des échantillons de sang recueillis et obtenu par la piqûre au talon du nouveau-né et séché sur un papier filtre selon les directives NCLS LA4A, le cas échéant. Le papier filtre doit être de marque Schleicher et de catégorie Schuell 903 de façon à ce que les échantillons soient équivalents aux calibrateurs fournis. Le sang recueilli et obtenu par la piqûre au talon du nouveau-né est recueilli de 3 à 5 jours après la naissance. Un caillot de sang couvrant une zone d'échantillon circulaire sur le papier filtre s'obtient par une application sur le papier filtre sur une goutte de sang coulant du

talon du bébé où une piqûre a été administrée. La zone d'échantillon du papier filtre doit être complètement couverte et imbibée. Après la collection des échantillons de test les papiers filtres sont séchés horizontalement (2 heures ou plus). Les spécimens séchés peuvent être rangés à 2 - 8°C. Seuls les caillots de sang préparés comme ci-dessus peuvent être testés. Les papiers filtres non utilisés devraient être desséchés

### MATÉRIAUX ET

### EQUIPEMENT REQUIS

### MAIS NON FOURNIS

- Eau distillée ou déminéralisée
- Disque perforateur
- Pincettes
- Pipettes de précision
- Pipettes de répétition
- Cylindre de mesure IL
- Tissu absorbant (antistatique - non ouaté)
- Chrono-régulateur
- Agitateur de microplaque
- Laveuse de microplaque
- Lecteur de plaque 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 calibre à chaque dosage. Avant de les laver pour la première fois, les disques perforateurs devraient être enlevés soit par suction ou en piquant doucement. Toutes les étapes du dosage devraient se dérouler sans interruption, mais si les cupules ne peuvent être remplies avec le réactif d'amplification ou une solution de substrat immédiatement après le lavage, alors les micropules peuvent être laissées renversées sur un tissu non ouaté pour au plus 30 minutes (Réactifs d'amplification) et 30 minutes (Solution de substrat). Les réactifs sont assortis dans chaque trousse et par conséquent, les réactifs de numéros de lots différents ne sont pas mêlés. Le photomètre et toutes les pipettes doivent être calibrés de 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-plaque automatique. Évitez le débordement d'une micropule à une autre.

### Contrôle de la qualité

Les spécimens de contrôle doivent être faits dans chaque dosage afin d'assurer une bonne procédure. Le contrôle des valeurs devrait se situer dans les étendues de 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 avec de l'eau déminéralisée. La solution de lavage peut être rangée à la température de la pièce (20-25°C) pour 12 semaines.

### Lyophilisé Calibrateurs\*

Pour reconstituer les calibrateurs 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 gentiment 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 jusqu'à 8 semaines.

### Caillots de sang

#### Calibrateurs et Contrôles\*

Les concentrations exactes déterminées lot par lot sont indiquées sur une étiquette pour chaque ensemble de caillots de sang.

Pour éviter la condensation, n'ouvrez pas les caillots de sang avant l'équilibration de la température. Sceller de nouveau les bandes de caillots de sang non utilisés dans un sac de plastique et le ranger à une température de 2 à 8°C.

### Protocole

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

2. Placer un seul disque de 3 mm (contrôle, spécimen) dans les cupules appropriées. Éviter le bord du caillot de sang lors de la perforation de l'échantillon.

3. A l'aide d'une pipette de précision de 15 µL, ajouter un simple disque de 3 mm perforé ou bien chaque calibre (comme prévu) dans les puits appropriés. Le temps utilisé pour préparer le calibre ne devrait pas dépasser les 20 minutes.

4. Ajouter avec l'aide d'une pipette 100 µL de réactif anticorps IRT néonatal (bleu) dans les cupules.

5. Couvrir les micropules avec le couvercle et laisser incubé pendant dix minutes sur un agitateur de microplaque à la température de la pièce (20-25°C).

6. Laisser incubé les micropules pendant toute la nuit (16-24 heures) immobiles à la température de la pièce (20-25°C).

7. Le jour suivant, incubé pour dix (10) minutes sur un agitateur de microplaque à la température de la pièce (20-25°C).

8. Après l'incubation, enlever les disques.

9. Laver les micropules, Aspirer le liquide et rincer chaque micropule 4 fois avec 250 µL la solution de lavage. Après le lavage final, inverser les micropules et tapoter légèrement mais fermement sur un tissu absorbant afin d'enlever toute solution-tampon de lavage. S'assurer qu'il ne reste aucune bulle d'air dans les micropules

10. Ajouter avec l'aide d'une pipette 100 µL de réactif d'amplification IRT néonatal (violet) dans chaque cupule.

11. Couvrir les micropules avec le couvercle et incubé pour 10 minutes sur agitateur de microplaque à la température de la pièce. (20-25°C).

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

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

14. Couvrir les micropules avec un couvercle et incubé pendant 10 minutes en les laissant immobiles à la température de la pièce (20-25°C).

15. Ajouter avec l'aide d'une pipette 50 µL de solution stop de stabilisation dans toutes les cupules dans la même séquence de temps que pour l'addition de solution de substrat.

16. Porter à un point final lisant à 450 nm et traiter les données tel que décrit dans le manuel de l'utilisateur du lecteur de la microplaque. Cette étape de lecture doit se faire dans les 30 minutes suivant l'arrêt de la réaction.

### CALCUL DES RÉSULTATS

Le calcul des résultats peut être fait manuellement s'il n'y a pas de réduction de données automatique. Déterminer l'OD pour chaque cupule.

Tracer la courbe du calibre sur un papier graphique logarithmique avec la concentration des calibrateurs sur l'axe x et OD sur l'axe y. La courbe peut être dessinée point par point ou un ajustement de courbe de routine, comme l'interpolation spline, peut être utilisée. Interpoler les valeurs de l'échantillon de OD mesurées par cette courbe de calibre. Enregistrer la valeur pour chaque échantillon en µg/L sang total IRT.

#### L'étendue de ELEGANCE

Neonatal IRT est de 0 à environ 1000\* µg/L sang total mais la concentration maximale pouvant être rapportée est limitée par les caractéristiques de la performance linéaire du photomètre utilisé.

Si la valeur OD du plus haut calibre est au-dessus de l'étendue du photomètre, alors ce calibre doit être omis du tracé de la courbe du calibre. De la même façon, toute mesure d'échantillon au-dessus de l'étendue du lecteur de la microplaque doit être simplement noté comme supérieur au plus haut calibre acceptable.

### MODÈLES DE CALCULS

Données de résultat final

ID	Ave OD	IRT (µg/L W.B)
0	0,054	
13,2	0,507	
30,8	1,169	
67,8	2,011	
161	2,629	
331	3,052	
1041*	3,513	
Échantillon 1	1,630	46,8
Échantillon 2	2,315	103,8
Échantillon 3	2,930	271,8

### CALIBRATION

Les calibrateurs fournis dans cette trousse sont calibrés sur la base de la mesure en protéines et sont exprimées en µg/L sang total. —On suppose que le volume de sang dans un caillot de 3 mm est de 3 µL avec une valeur hémocrite de 55% (v/v). La conversion des unités standard peut être faite en utilisant le rapport suivant :

$$\text{Sérum } \mu\text{g/L} = \text{sang total } \mu\text{g/L} \times 2,2$$

### VALEURS ATTENDUES

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre étendue de référence selon l'échantillon de la population représentée. Typiquement, la valeur de démarcation de 50 µg/L sang total est utilisée pour les nouveaux-nés, 3 à 5 jours après la naissance. Les mesures d'échantillon au-dessous de la valeur de démarcation présumée positive sont considérées normales. Il a été découvert que les concentrations de trypsinogène dans des nouveaux-nés insensibles au traitement n'étaient pas distribuées normalement mais pouvaient être converties à une distribution normale par une transformation logarithmique.

### CARACTÉRISTIQUES DE LA PERFORMANCE

#### Précision intra-dosage

Échantillon	n	Moyenne ± 2SD (µg/L sang total)	% CV
1	20	33,1 ± 1,8	2,8
2	20	58,0 ± 5,7	4,9
3	20	14,9 ± 2,4	7,9

#### Précision intra-dosage

Échantillon	n*	Moyenne ± 2SD (µg/L sang total)	% CV
1	66	28,0 ± 2,8	7,0
2	66	56,4 ± 6,2	6,3
3	66	15,8 ± 3,5	3,7

\*en duplicata

### Spécificité

Analyte	Concentration analysée	Résultats apparents IRT (µg/L sang total)	Réactivité X
---------	------------------------	---	--------------

Humain			
á <sup>2</sup> - Macroglobuline	50 mg/mL	<1	N.D
á - I - Antitrypsine	3 mg/mL	<1	N.D
á - ChymotrypsineA	780 ng/mL	<1	N.D
Bovin			
Trypsinogène	500 ng/mL	<1	N.D

### Précision

La récupération a été calculée par le dosage avant et après l'addition de l'analyte (x) hexogène

Échantillon	IRT (µg/L W.B.) observé	IRT (µg/L W.B. L.) attendu	% récupération
1	95,3	94,7	100,6
2	154,0	153,0	100,7
3	259,7	226,0	114,9

### Dilution

Un échantillon a été dilué dans un sérum zéro, dosé et la récupération a été calculée.

Échantillon	IRT (µg/L W.B.) observé	IRT (µg/L W.B. L.) attendu	% récupération
Net	196,7		
½	98,0	98,4	99,6
¼	49,7	49,2	101,1
1/8	24,5	24,6	99,6

### Haute dose à effet crochet

Les doses à effet crochet sont caractéristiques des dosages, et peuvent se produire lorsque des échantillons de haute valeur portent des résultats IRT aberrants. Aucun effet crochet n'a été trouvé dans les échantillons de test avec des valeurs IRT élevés, et incluant la limite de test de 80000 µg/L sang total.

### Sensibilité

La sensibilité du dosage est typiquement moins de <1 µg/L sang total (sérum 2,2 µg/L). La sensibilité est définie comme la concentration de l'analyte correspondant à la réponse de dosage variable (OD) qui est de deux déviations standard plus grande que la réponse de dose moyenne variable de 20 déterminations répliquées du calibre zéro dans les trois dosages différents.

### INFORMATIONS POUR PASSATION DE COMMANDE

ELEGANCE Neonatal IRT 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](mailto:sales@bioclone.com.au)

Web : [www.bioclone.com.au](http://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

Partie No.EKBIRTF Ed. 6 Date de révision : 5 Le 2008 mai

(\*le cas échéant)