



# TROUSSE ELISA PROGESTÉRONNE ELEGANCE

REF 40 490096

Σ 96

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 1800 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* ELISA Progéstérone a été conçue pour l'évaluation quantitative *in vitro* de la progéstérone (P4) dans le sérum ou le plasma.

## PRINCIPES DE ELISA ELEGANCE

P4 est un dosage immuno-enzymatique incorporant un anticorps monoclonal anti-progéstérone (Réactif anticorps) et un anticorps polyclonal anti-sérum de souris IgG (gamma globuline) lié aux micropules. Il s'agit d'une méthode "compétitive" en une étape, en utilisant un raifort progéstérone conjugué peroxydase (P4-HRP) pour produire le signal généré. Pendant l'incubation, des complexes se forment entre l'anticorps monoclonal et l'échantillon antigène ou P4-HRP. Cela se produit lorsque l'anticorps lui-même est capturé par l'anticorps secondaire lié à la micropule. Les micropules sont lavées pour enlever tout matériel sans liaison. Après le lavage, la solution de substrat réagit avec toute peroxydase liée pour produire une couleur inversement proportionnelle à la quantité d'échantillon antigène, qui peut être calculée sur 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.

## Progéstérone:

### Micropules enrobées

#### 96 cupules REF # P4A96

Support contenant des micropules enrobées avec un anticorps anti-souris IgG. Prêt à l'utilisation.

## Progéstérone:

### Réactif anticorps

#### 1 fiole REF # P4B96

5 mL d'anticorps anti-progéstérone de souris dans une solution tampon contenant des protéines de sérum animal qui contient à son tour une teinture bleue. Contient du Bronidox L, 0,2% v/v et du thiomersal, 0,01% w/v. Prêt à l'utilisation.

## Progéstérone:

### Réactif conjugué

#### 1 fiole REF # P4C96

5 mL de progéstérone-HRP conjugué dans une solution tampon contenant une teinture violette. Contient du Bronidox L, 0,2% v/v et du thiomersal, 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 thiomersal, 0,09% w/v. À diluer avant l'utilisation.

## Solution de substrat

### TMB N

#### 1 fiole REF # TMBB96

10 mL contenant 3,3',5,5' - tétraméthylbenzine (TMB N) et du peroxyde d'hydrogène dans une solution stabilisante.

Prêt à l'utilisation.

## Progéstérone: Calibrateurs

### 6 fioles REF # EP4S1-6

2,0 mL dans le calibrateur A et 0,5 mL dans le calibrateur B-F, chacun dans du sérum humain. Contient du thiomersal, 0,01% 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 doivent être conformes 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 VIH (virus de l'immunodéficience humaine) - 1/2 (SIDA :Syndrome de l'immunodéficience acquise) et ont été trouvés comme étant non réactifs 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 agent 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

Éviter tout contact avec la peau.

## COLLECTION DE SPÉCIMENS ET MANIPULATION

Aucune préparation spéciale du patient n'est requise. Les spécimens peuvent être soit du sérum ou du plasma recueilli de façon appropriée pour les tests de laboratoire. Le sérum est préféré, mais cependant les anticoagulants héparine ou EDTA peuvent être employés sans en compromettre la précision.

Éviter les spécimens troubles, hémolytiques ou porteurs d'hyperlipémie.

Les spécimens peuvent être rangés à 2-8°C 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
- 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- Pipettes de précision
- Pipette de répétition
- Cylindre de mesure IL
- Tissu absorbant (non ouaté)
- Compteur gamma
- Agitateur de plaque de microtitrate
- Laveur de plaque de microtitrate
- Système de lecteur de plaque de microtitrate

## 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 conseillées. 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 Conjugué 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 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.

### Calibreurs

Pour reconstituer les calibreurs 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.

#### 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 40 minutes.

3. Ajouter avec l'aide d'une pipette 50 µL de réactif conjugué de progestérone (violet) dans toutes les cupules.

4. Ajouter avec l'aide d'une pipette 50 µL de réactif anticorps de progestérone (bleu) dans toutes les cupules.

5. Couvrir les micropules avec les couvercles et laisser incubé 60 minutes sur un agitateur de plaque 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 substrat (TMB N) dans toutes les cupules. Le temps de l'étape d'incubation se mesure par l'addition de la solution de substrat dans la première cupule.

8. Couvrir les micropules avec le couvercle et incubez pour 5 minutes en les immobilisant à la température de la pièce (20-25°C).

9. Ajouter avec l'aide d'une pipette 50 µL de 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dans toutes les cupules dans une séquence de temps identique que celle utilisée dans l'addition de la solution de substrat.

10. 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 15 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 calibrateur 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 logarithmique de 4 paramètres. Interpoler les valeurs de l'échantillon de la densité optique mesurée par cette courbe de calibrateur.

Enregistrer la valeur pour chaque échantillon dans nmol/L P<sub>4</sub>.

L'étendue de l'ELEGANCE

Progestérone ELISA est de 0 à environ 100 nmol/L, mais la concentration minimum 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 bas ou calibrateur zéro est au-dessus de l'étendue du photomètre, alors ce calibrateur doit être omis du tracé de la courbe du calibrateur.

#### CALCUL DE MODÈLES

Données de point final

ID	Moyenne densité optique	P <sub>4</sub> (nmol/L)
0	2,815	
1,0	2,230	
3,0	1,723	
10	0,867	
30	0,367	
100	0,128	
Échantillon 1	1,523	3,79
Échantillon 2	0,457	23,40
Échantillon 3	0,224	53,30

#### CALIBRATION

Les calibrateurs fournis dans cette trousse sont calibrés et marqués en nmol/L. Il est possible de faire la conversion des unités du calibrateur en utilisant les rapports suivants :  

$$\text{ng/mL P}_4 = \frac{\text{nmol/L P}_4}{3,18}$$

#### 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, calculée à un intervalle de confiance de 95%, a été obtenue en analysant des échantillons de sérum provenant d'individus en santé et est donnée comme guide seulement :

	n	Étendu (nmol/L)
Homme adulte	68	< 4,5 (2,2)
Femme adulte		
Phase folliculaire	36	0,7 - 3,5 (2,1)
Phase lutéinique	40	>> 5,0*
Post-ménopausique	11	< 1,6 (0,7)

\*généralement <60 nmol/L ; 0 les numéros entre parenthèse sont la moyenne

Pendant la grossesse

1 <sup>er</sup> trimestre	<100	nmol/L
2 <sup>e</sup> trimestre	100 - 300	nmol/L
3 <sup>e</sup> trimestre	> 300	nmol/L

#### CARACTÉRISTIQUES DE LA PERFORMANCE

##### Précision intra-dosage

Échantillon	n	Moyenne ± 2SD (nmol/L)	% CV
1	16	3,35 ± 0,34	5,1
2	16	18,50 ± 0,91	2,5
3	16	41,40 ± 2,62	3,2

##### Précision inter -dosage

Échantillon	n*	Moyenne ± 2SD (nmol/L)	% CV
1	40	3,40 ± 0,59	8,7
2	40	19,90 ± 2,87	7,2
3	40	46,40 ± 6,79	7,3

\*en duplicata,

##### Précision

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

Échantillon	P (mn <sup>4</sup> /L) observé	P (mn <sup>4</sup> /L) attendu	% récupération
1	4,64	4,77	97,3
2	5,36	5,12	104,6
3	5,79	6,12	94,6
4	8,59	9,62	89,3

##### Dilution

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

Échantillon	P (mn <sup>4</sup> /L) observé	P (mn <sup>4</sup> /L) attendu	% récupération
Net	21,0		
1/2	10,4	10,5	99,0
1/4	5,1	5,3	97,1
1/8	2,5	2,6	96,2

##### Spécificité

Substance à analyser	% réactivité-croisée
Progestérone*	100,00
17 α-OH-Progesterone	1,80
Pregnenolone	1,10
Déoxycorticostérone	0,47
Androsténédial	<0,20
Cholestérol	<0,20
Corticostérone	>0,20
Cortisol	<0,20
11-Déoxycortisol	<0,20
17α-Oestradiol	<0,20
17β-Oestradiol	<0,20
Oestriol	<0,20
Oestrone	<0,20
Prégnanone	<0,20
20α-OH-Progesterone	<0,20
20β-OH-Progesterone	<0,20
Testostérone	<0,20

##### Sensibilité

La sensibilité du dosage est typiquement moins de 0,25 nmol/L. La sensibilité est définie comme la concentration du mélange à analyser correspondant à la variable dépendante de la dose (densité optique) qui est de deux déviations standard plus grandes que la réponse de dose moyenne variable de 20 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 de la triglycéride jusqu'à 970 mg/dL.

#### INFORMATIONS POUR PASSATION DE COMMANDE

ELEGANCE Progestérone 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