



BIOCLONE

TROUSSE ELISA PROLACTINE ELEGANCE

REF 40 410096

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 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 Elisa PROLACTINE a été conçue pour l'évaluation quantitative in vitro de la prolactine humaine (PRL) dans le sérum ou le plasma.

PRINCIPES DE LA TROUSSE ELEGANCE ELISA

ELEGANCE ELISA est un principe de dosage immunologique lié à l'enzyme. L'échantillon antigène est intercalé entre l'anticorps lié à la micropule et le réactif anticorps biotinylé. Les micropules sont lavées pour enlever tout matériel non lié. La streptavidine peroxydase est ajoutée (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'àux dates d'expiration écrites.

Prolactine:

Micropules enrobées

96 cupules REF # PLA96

Support contenant des micropules enrobées avec de l'anticorps anti-prolactine. Prêt à l'utilisation.

Prolactine:

Réactif d'anticorps

1 fiole REF # PLB96

10 mL d'anticorps anti-prolactine biotinylés dans une solution tampon contenant du sérum bovin albumine, du sérum animal non immun et une teinture bleue.

Contient de l'acide de sodium, 0,2% w/v et du thimérosal, 0,01% w/v. Prêt à l'utilisation.

Prolactine:

Réactif d'amplification

1 fiole REF # PLP96

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.

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.

Tampon de substrat

1 fiole REF # ESB20

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

Tablettes de substrat

1 fiole REF # EST4

Tablettes d'orthophénylène diamine de 4x4 mg avec des ingrédients inactifs.

Prolactine : Calibrateurs

6 fioles REF # EPLSI-6

1,5 mL dans le calibrateur A et 0,5 mL dans le calibrateur B-F, chacun dans le sérum humain. Contient de l'acide de sodium, 0,1% 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 VIH (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 de l'acide de sodium, 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. L'acide de sodium pourrait réagir avec le plomb et le cuivre pour former des acides potentiellement explosifs.

Substrat

Évitez le contact avec la peau.

COLLECTION DE SPÉCIMENS ET MANIPULATION

Aucune préparation spéciale du patient n'est requise. Les spécimens peuvent être du sérum ou du plasma recueilli de manière appropriée pour les tests de laboratoire. Le sérum est préféré mais cependant l'anticoagulant héparine ou EDTA peut être utilisé sans compromettre la précision. Éviter les spécimens troubles, hémolytiques ou porteurs d'hyperlipémie.

Ces 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
- 1M H₂SO₄
- Pipette de précision
- Pipette de répétition
- Cylindre de mesure IL
- Tissu absorbant (non ouaté)
- Chrono régulateur
- Mélangeur Vortex
- 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 recommandées.

La contamination des réactifs portera à un mauvais rendement. Il faut faire une courbe de calibrateur à chaque dosage. 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 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.

Solution de substrat

Il est recommandé que ce réactif soit fait immédiatement avant l'utilisation. Placer le nombre exact de tablettes OPD dans le montant requis de tampon de substrat.

Ajouter une tablette pour 5mL. Après que les tablettes se sont complètement dissoutes, (1-2 minutes) et qu'il ne reste aucune bulle, replacer l'obturateur sur la bouteille et mélanger par inversion. Éviter la lumière forte. La solution de substrat doit être utilisée à l'intérieur d'une période de 30 minutes de préparation.

Calibrateurs

Pour reconstituer les calibrateurs lyophilisés, ajouter le volume de l'eau déminéralisée indiquée sur chaque étiquette de fiole. Permettre aux fioles de reposer jusqu'à dissolution complète (30 min.) et ensuite mélanger doucement par inversion. Les concentrations exactes déterminées lot par lot sont écrites sur une étiquette spéciale à l'intérieur de la trousse. .

Après la reconstitution, les calibrateurs devraient être ranges à -20° pour une période de 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 25 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 100 µL de solution de reactif d'anticorps Prolactine (bleu) dans toutes les cupules.
4. Couvrir les micropules avec un couvercle et incuber pendant 60 minutes sur un agitateur de plaque à la température de la pièce (20 – 25°C).
5. 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.
6. Ajouter avec l'aide d'une pipette 100 µL de solution de reactif d'amplification Prolactine (violet) dans toutes les cupules.
7. 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).
8. Après l'incubation, répéter l'étape de lavage.
9. Ajouter à l'aide d'une pipette 100 µL de solution de substrat 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.

10. Couvrir les micropules avec un couvercle et incuber pendant 5 minutes en les immobilisant à la température de la pièce (20 – 25°C).
11. Ajouter avec l'aide d'une pipette 50 µL de 1M H₂SO₄ dans toutes les cupules dans la même séquence de temps que pour l'addition de solution de substrat.
12. Procéder à une lecture du point final à 490 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 la valeur pour chaque échantillon dans mIU/L Prolactine. L'étendue de l'ELEGANCE PROLACTINE ELISA est de 0 à environ 3000 mIU/L, 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

Données de point final

ID	Moyenne densité optique	PRL (mIU/L)
0	0,062	
50	0,144	
150	0,310	
400	0,765	
1200	1,618	
3000	2,631	
Échantillon 1	0,191	80
Échantillon 2	1,576	295
Échantillon 3	1,109	689

CALIBRATION

Les calibrateurs fournis dans cette trousse sont calibrés et marqués mIU/L, en référence à WHO 3e IS 84/500. Pour convertir en ng/mL, utiliser :

$$\text{ng/mL PRL} = \frac{\text{mIU/L PRL}}{21,2}$$

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 dosant les échantillons de sérum sur des personnes en santé et est donné comme guide seulement :

	n	Étendue PRL (mIU/L)
Femme < 45 ans	33	76 - 464
≥ 45 ans	36	59 - 377
Homme	70	57 - 326

CARACTÉRISTIQUES DE LA PERFORMANCE

Précision intra dosage

Échantillon	n	Moyenne ± 2SD (mIU/L)	% CV
1	16	139,9 ± 8,5	3,0
2	16	449,4 ± 1,91	2,7
3	16	776,5 ± 74,2	5,2

Précision inter dosage

Échantillon	n*	Moyenne ± 2SD (mIU/L)	% CV
1	22	137,8 ± 19,1	6,9
2	22	338,6 ± 44,5	5,6
3	22	869,2 ± 103,9	6,0

*en duplicata,

Spécificité

Mélange à analyser	Concentration analysée	PRL apparent Résultats (mIU/L)
GH	500 mIU/L	non détectable
Lactogène placentaire humain	100 mIU/L	non détectable

Précision

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

Échantillon	PRL (mIU/L) observé	PRL (mIU/L) attendu	% récupération
1	139,9	137,8	101,5
2	252,0	252,0	100,0
3	394,0	401,0	98,4
4	1037,0	1100,0	94,2

Dilution

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

Échantillon	PRL (mIU/L) observé	PRL (mIU/L) attendu	% récupération
Net	909,0		
½	462,2	454,5	101,4
¼	214,1	227,3	93,5
1/8	112,4	113,6	98,1
1/16	56,8	56,8	100,0

Haute dose à effet crochet

À cause de la haute dose à effet crochet caractéristique du dosage, les échantillons plus grands de 32000 mIU/L peuvent porter des résultats aberrants, moins de celui du plus haut calibrateur des trousse. Ces échantillons doivent être dilués avec le calibrateur zéro et ensuite dosés de nouveau.

Sensibilité

La sensibilité du dosage est typiquement moins de 10 mIU/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 16 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, des triglycérides jusqu'à 970 mg/dL .

INFORMATIONS POUR PASSATION DE COMMANDE

ELEGANCE PROLACTINE 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

Partie No. EKBPRFL Ed.5

Date de révision : 26 janvier 2006