



ELEGANCE

TROUSSE ELISA FT4

REF 40 465096

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 *ELEGANCE* FT4 ELISA a été conçue pour l'évaluation quantitative in vitro de la thyroxine libre (FT4) dans le sérum ou le plasma.

PRINCIPES DE LA TROUSSE *ELEGANCE* ELISA

ELEGANCE ELISA est un principe de dosage immunologique lié à l'enzyme, incorporant l'anti-T4, anticorps monoclonal (Réactif anticorps) et un anticorps polyclonal IgG anti-souris lié aux micropules. C'est une méthode en deux étapes (méthode de titrage par retour) utilisant un peroxydase conjugué au raifort (*armoracia lapathifolia*) T4 (T4-HRP) pour produire le signal généré. Pendant l'incubation, des complexes se forment entre les anticorps et les échantillons antigènes. Les micropules sont lavés pour enlever tout matériel non lié. Le T4-HRP (réactif conjugué) est ajouté et se lie aux sites de combinaison avec l'antigène de l'anticorps monoclonal. Après le lavage, la solution de substrat réagit avec toute peroxydase liée de la couleur en proportion inversement proportionnelle avec la quantité d'échantillon d'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 ouvertes ou non ouvertes devraient être rangées à 2-8°C jusqu'aux dates d'expiration écrites.

FT4: Micropules enrobées

96 cupules REF # T4A96
Support contenant des micropules enrobées avec de l'anticorps IgG anti-souris. Prêt à être utilisé.

FT4: Réactif d'anticorps

1 fiole REF # T4B96
10 mL d'anticorps anti T4 de souris, dans une solution tampon contenant du sérum animal et une teinture bleue. Contient de l'acide de sodium 0,1% w/v. Prêt à l'utilisation.

FT4: Réactif conjugué

1 fiole REF # T4C96
10 mL de T4-HRP conjugué avec une solution tampon contenant une teinture violette. Contient du Bronidox L, 0,2% v/v et du 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.

Tampon de substrat

1 fiole REF # ESB20
20 mL de peroxyde d'urée dans un tampon de citrate-phosphate. Contient du thimérosal, 0,01% w/v.

Tablettes de substrat

1 fiole REF # EST4

Tablettes de 4 x 4 mg de orthophénylène diamine (OPD) avec des ingrédients inactifs.

FT4: Calibrateurs

6 fioles REF # ET4S1-6

0,25 mL chaque dans le sérum humain. Contient de l'acide de sodium 0,1% w/v.

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 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 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 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 H₂SO₄
- Pipettes de précision
- Pipette de répétition
- Cylindre de mesure 1L
- Tissu absorbant (non ouaté)
- Chronorégulateur
- 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 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 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 préparé immédiatement avant l'utilisation.

Placer le nombre requis de tablettes OPD dans la quantité de tampon de substrat nécessaire. Ajouter 1 tablette par 5 mL. Lorsque les tablettes 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 directe. La solution de substrat doit être utilisée à l'intérieur d'une période de 30 minutes suivant la préparation.

Calibrateurs

Mélanger les fioles 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 la 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 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 40 minutes.
3. Ajouter avec l'aide d'une pipette 100 µL de Réactif anticorps FT4 (bleu) dans toutes les cupules.
4. Couvrir les micropules avec un couvercle et laisser incubé 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 100µL de réactif d'amplification FT4 (violet) dans toutes les cupules.
7. Couvrir les micropules avec un couvercle et laisser incubé pendant 10 minutes sur l'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 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.

CALIBRATION

La dialyse à l'équilibre a été utilisée Les calibrateurs fournis dans cette trousse sont calibrés et marqués en pmol/L. Il est possible de convertir les unités en utilisant le rapport suivant :

$$\text{ng/dL FT}_4 = \text{pmol/L FT}_4 \times 0,078$$

10. Couvrir les micropules avec un couvercle et incubé 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 à l'intérieur d'une séquence de temps identique que celle utilisée dans l'addition de la 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 logistique à 4 paramètres. Interpoler les valeurs de l'échantillon de la densité optique mesurée par cette courbe de calibre. Enregistrer la valeur pour chaque échantillon dans pmol/L FT₄. L'étendue de l'ELEGANCE FT4 ELISA est de 0 à environ 125 pmol/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 calibre le plus haut est au-dessus de l'étendue du photomètre, alors ce calibre doit être omis du tracé de la courbe du calibre.

CALCUL DE MODÈLES

Données de point final

ID	Moyenne densité optique	FT ₄ (pmol/L)
0	2,774	
4,99	2,412	
10,7	2,203	
25,7	1,650	
58,8	1,228	
125	1,036	
Échantillon 1	2,446	5,38
Échantillon 2	1,442	37,30
Échantillon 3	1,092	93,80

LIMITATIONS

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

Éviter les spécimens traités à la chaleur pouvant donner des valeurs FT₄ élevées, dues à la dénaturation des protéines liées et au dérangement de l'équilibre non complexé T₄.

Les spécimens provenant de patients ayant des anticorps circulant anti-souris élevés comme résultat d'une thérapie d'anticorps monoclonal de souris pourraient donner des niveaux faussement élevés ou déprimés. Il ne faut pas faire le dosage de ces spécimens en utilisant cette trousse.

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 :

Échantillons euthyroïdes	n = 159
Valeur moyenne	6,2 pmol/L
Étendue des valeurs obtenues	9,3 – 24,9 pmol/L
Étendue de référence	10,7 – 21,7 pmol/L

CARACTÉRISTIQUES DE LA PERFORMANCE

Précision intra-dosage

Échantillon	n	Moyenne ± 2SD (pmol/L)	% CV
1	14	7,3 ± 1,4	9,6
2	14	14,8 ± 1,6	5,4
3	14	40,4 ± 2,1	2,6

Précision inter-dosage

Échantillon	n*	Moyenne ± 2SD (pmol/L)	% CV
1	40	6,5 ± 1,9	14,6
2	40	17,8 ± 2,7	7,6
3	40	41,2 ± 4,5	5,5

*en duplicata,

Spécificité

Mélange à analyser	% réactivité croisée
D-thyroxine	0,50
L-3,3',5 triiodothyronine (T ₃)	<0,01
L-3,3',5 triiodothyronine (rT ₃)	<0,01
L-3,5- diiodotyrosine (DIT)	<0,01
Salicylate de sodium	<0,01
O-acétylsalicylique	<0,01
Méthimazole	<0,01
Phénylbutazone	<0,01
5,5-diphénylhydantion	<0,01

Sensibilité

La sensibilité du dosage est typiquement moins de 2 pmol/L.

La sensibilité est définie comme la 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 dose moyenne variable de 20 déterminations répliquées du calibre 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 et des acides gras non estérifiés jusqu'à 4 mmol/L.

INFORMATIONS POUR PASSATION DE COMMANDE

ELEGANCE FT4 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.EKBT4F Ed. 7

Date de révision : 17 Pouvoir 2009