



TROUSSE IGFBP-3 RIA

REF 10 095100
Σ 100

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

IGFBP-3 RIA a été conçu pour l'évaluation quantitative in vitro de l'IGFBP-3 (facteur de croissance semblable à l'insuline agglomérant la protéine 3) dans le sérum ou le plasma.

PRINCIPES DU RIA

RIA est un système de dosage de radio-immunologique anticorps double. Le mélange à analyser se mesure à l'anticorps traceur marqué ¹²⁵I pour la liaison avec une quantité constante d'anticorps.

Un second anticorps/complexe PEG est utilisé pour séparer les anticorps libres de traceur marqué ¹²⁵I de ceux qui sont liés au traceur marqué ¹²⁵I. En suivant la centrifugation, le surnageant est jeté et le culot contenant la radioactivité liée est compté en utilisant un compteur gamma. La concentration du mélange à analyser est inversement proportionnelle à la radioactivité liée dans le culot. Les données d'énumération du calibre sont rapportées ensemble et les échantillons sont lus sur la courbe de calibre construite.

RÉACTIFS FOURNIS,

STABILITÉ ET RANGEMENT

Taille de la trousse - 100 tests. La trousse et toutes ses composantes, ouvertes ou non ouvertes, devraient être rangées à 2-8°C jusqu'aux dates d'expiration énumérées.

IGFBP- 3: Traceur

1 fiole REF # BPII

11 mL ¹²⁵I étiqueté IGF-I liés et covalents à IGFBP-3 (1µCi) dans un tampon BSA PBS contenant une teinture rouge. Contient de l'acide de sodium 0,1% w/v. Prêt à l'utilisation.

IGFBP- 3: Antisérums

1 fiole REF # BPAI

11 mL contenant de l'anti-sérum IGFBP-3 de lapin dilué dans un tampon BSA PBS et une teinture bleue. Contient de l'acide de sodium 0,1% w/v. Prêt à l'utilisation.

Réactif de précipitation

1 fiole REF # SMEI

53 mL contenant du sérum animal et du glycol polyéthylène dans un tampon BSA PBS. Contient du Bronidox L 0,25% v/v. Mélanger parfaitement avant l'utilisation.

IGFBP-3: Calibreurs

1 fiole REF # BPSI

50 mL chaque du Calibreur A (0 µg/mL concentré), contenant une solution concentrée à 4 x de tampon BSA BPS. Contient de l'acide de sodium 0,4% w/v. À diluer avant l'utilisation.

5 fioles REF # BPS2-6

1,0 mL chaque de Calibreur B-F dans un tampon BSA PBS. Contient de l'acide de sodium 0,1% w/v. Lyophilisé.

IGFBP-3: Contrôles

2 fioles REF # BPC1-2

1,0 mL chaque dans le tampon BSA PBS. Contient de l'acide de sodium 0,1% w/v. Lyophilisé.

Ne pas diluer.

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, calibreurs et contrôles

Le matériel source des calibreurs et des contrôles 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 de l'acide de sodium et du Bronidox L à utiliser 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. L'acide de sodium pourrait réagir avec le plomb et le cuivre pour former des acides potentiellement explosifs.

Matière radioactive

Le traceur contient de la matière radioactive.

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
- * Tubes de tests en plastique avec bouchons jetables de 12 X 75 mm
- * Pipettes de précision
- * Pipette de répétition
- * Cylindre de mesure 100 mL
- * Agitateur-mélangeur Vortex
- * Chrono-régulateur
- * Centrifuge réfrigérante capable de 2000 x g
- * Tissu absorbant
- * Compteur gamma

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 épreuve biologique. Toutes les étapes du dosage devraient se dérouler sans interruption. Les réactifs sont assortis dans chaque trousse et par conséquent, les réactifs appartenant à différents numéros de lot ne devraient pas être mélangés. Le compteur gamma et toutes les pipettes utilisées devraient être calibrées d'une façon appropriée avant l'utilisation. Si une centrifuge n'atteint pas au moins 2000 x g, le contenu du culot de centrifugation pourrait résulter instable. Le temps de centrifugation doit donc être augmenté.

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

Réactifs de précipitation

Mélanger parfaitement avant d'utiliser.

Calibreurs et contrôle

Pour reconstituer les calibreurs lyophilisés et le contrôle, 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 calibreurs et contrôle doivent être rangés à -20°C.

Procédure de dilution

Calibreur A

0 µg/mL concentré

Diluer le calibreur A dans le l'eau distillée en proportion de 1 dans 4. Si le Calibreur A s'est cristallisé, réchauffé à 37°C. La solution Calibreur A est ensuite utilisée également comme le diluant échantillon et peut être rangé à 2-8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur la liste.

Préparation des échantillons

Les échantillons (non les calibreurs/contrôles) devraient être dilués à 1:199. Les bas échantillons peuvent être dilués à 1:99 et ces valeurs devraient être divisées en 2 lors du calcul des valeurs du sérum.

1. Étiqueter les tubes de dilution (1 par échantillon)
- 2a. Pour une proportion de 1 dans 100, verser à l'aide d'une pipette 10 µL de l'échantillon, ajouter 0,99 mL de 0 µg/mL de diluant.
- b. Pour une proportion de 1 dans 200, verser à l'aide d'une pipette 10 µL de l'échantillon, ajouter 1,99 mL de 0 µg/mL de diluant.
3. Centrifuger au vortex.

Protocole

1. Assembler et étiqueter les tubes de test en double selon le nombre de tests requis. Y inclure le compte total (TC), l'agglomérant non spécifique (NSB - Non-Specific Binding), les calibreurs, les contrôles et les spécimens dilués.
2. Ajouter avec l'aide d'une pipette 200 µL de diluant de calibreur 0 µg/mL en double dans les tubes d'agglomérant non spécifique (NSB).
3. Ajouter avec l'aide d'une pipette 100 µL d'échantillon (calibreur, contrôle spécimen dilué) en double dans les tubes appropriés.
4. Ajouter avec l'aide d'une pipette 100 µL d'antisérum IGFBP-3 (bleu) à tous les tubes sauf aux NSB et TC.
5. Ajoutez à l'aide d'une pipette 100 µL de Traceur IGFBP-3 (rouge) dans tous les tubes.
6. Mélangez doucement au vortex les tubes et laissez en incubation toute la nuit à la température de la pièce (20-25°C, 16-24 heures). Tous les tubes devraient être mauves sauf les tubes NSB et TC.
7. À la fin de la période d'incubation, ajouter avec l'aide d'une pipette 500 µL du réactif de précipitation bien mélangé dans tous les tubes sauf TC et vortex. Mettez les tubes de côté, et laissez incuber pendant 15 minutes à la température de la pièce (20-25°C).
8. Centrifugez tous les tubes pendant 20 minutes à 2000 x g dans une centrifugeuse réfrigérée (4°C).
9. Immédiatement après la centrifugation, décantez le surnageant complètement. Secouez doucement les tubes sur du papier absorbant et séchez les bords pour enlever tout résidu de surnageant.
10. Compter les tubes pendant 1 minute en utilisant le compteur gamma. Le fait de compter plus longtemps réduira les erreurs de numération statistique. Enregistrez la désintégration/minute de chaque tube.
11. Calculer les résultats.

CALCUL DES RÉSULTATS

Le calcul des résultats peut être fait manuellement s'il n'y a pas de réduction de données automatique. Calibreurs prêt à l'utilisation 1 dans 200.

1. Déterminer la moyenne cpm pour les tubes en double.
2. Tracer la courbe du calibreur sur un papier graphique logarithmique ou log-linéaire en utilisant la méthode ci-dessous:

Utiliser la formule suivante pour calculer le %B/T:

$$\%B/Bo = \frac{\text{cpm}(\text{Échantillon}) - \text{cpm}(\text{NSB})}{\text{cpm}(\text{Calibreur}A) - \text{cpm}(\text{NSB})} \times 100$$

3. Tracer %B/Bo sur l'axe y versus les concentrations énoncées des calibreurs.
4. Lire les échantillons directement de la courbe des calibreurs comme µg/mL.

MODÈLES DE CALCULS

ID	Ave cpm	%B/Bo	IGBP-3 (µg/mL)
TC	7019		
NSB	113		
0	3311	100,0	
1	2798	84,0	
4	1798	52,7	
10	1123	31,6	
20	710	18,7	
60	413	9,4	
Échantillon 1	951	26,1	12,9
Échantillon 2	2087	61,7	2,9

ÉTALONNAGE

Les calibreurs fournis dans cette trousse sont calibrés à IGFBP-3 hautement purifié.

LIMITATIONS

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

Les échantillons contenant une radioactivité naturelle ne devraient pas être utilisés. Tous les échantillons suspects devraient être dépistés pour la radioactivité avant de faire le dosage et il faudrait s'abstenir de les utiliser jusqu'à ce que la radioactivité ait diminué ou encore utiliser un nouvel échantillon.

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 analysant des échantillons de sérum provenant d'individus en santé et est donnée comme guide seulement:

Adultes normaux	1,7 – 4,0 µg/mL
Moyenne	2,7 µg/mL
(n = 103)	

CARACTÉRISTIQUES DE LA PERFORMANCE

Précision intra-dosage

Échantillon	n	Moyenne ± 2SD (µg/mL)	%CV
1	10	4,0 ± 0,4	4,7
2	10	1,6 ± 0,2	6,0
3	10	3,9 ± 0,3	3,7
4	10	7,3 ± 0,4	2,6

n= parties aliquotes diluées

Précision intra-dosage

Échantillon	n*	Moyenne ± 2SD (µg/mL)	%CV
1	9	3,9 ± 0,2	6,1
2	9	1,4 ± 0,1	6,9
3	9	3,9 ± 0,3	8,5
4	9	6,8 ± 0,3	4,9

n= parties aliquotes diluées*en duplicata

Spécificité

Mélange à analyser	Concentration analysée	Résultat apparent IGFBP-3
GH humain	50 ng/mL	non détectable
IGF-1	22 ng/mL	non détectable

Précision

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

Échantillon	IGFBP-3 (µg/mL) observe	IGFBP-3 (µg/mL) attendu	% récupération
1	6,52	6,84	95,3
2	5,66	5,68	99,6
3	6,86	6,92	99,1

Dilution

Un échantillon a été dilué dans un calibreur zéro analysé et la récupération a été calculée.

Échantillon	IGFBP-3 (µg/mL) observe	IGFBP-3 (µg/mL) attendu	% récupération
1/50	24,73	24,73	100,0
1/100	12,75	12,36	103,2
1/200	5,77	6,18	93,4
1/400	2,81	3,09	90,9
1/800	1,52	1,55	98,1

Sensibilité

La sensibilité, déterminée comme étant la concentration du mélange à analyser correspondant à deux déviations standard de la moyenne de la variable dépendante du calibreur zéro (mesurée dans 9 mélanges à analyser) est 0,7 µg/mL. Selon l'actuelle concentration de IGFBP-3, la sensibilité est 3,5 ng/mL.

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 du triglycéride jusqu'à 970 mg/dL.

INFORMATIONS POUR PASSATION DE COMMANDE

L'IGFBP-3 RIA 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.KBBPF Ed 8

Date de révision: 13 Juin 2008