



TROUSSE Total IgE IRMA

REF 20 IGE125
Σ 125

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 IgE IRMA a été conçue pour l'évaluation quantitative *in vitro* de l'immunoglobuline E (IgE) totale dans le sérum ou le plasma

PRINCIPES D'IRMA

La trousse IRMA est un système de dosage radio-immuno-sorbent. L'échantillon est incubé avec l'IgE anti-humain monoclonale

complexée à des particules de polystyrène magnétisable (en phase solide) à 37°C. L'immunoglobuline E (IgE) anti-humaine de chèvre polyclonale marquée ¹²⁵I est ajoutée et il y a une seconde incubation à 37°C. Après l'incubation, la résultante intercalée est sédimentée, transvasée et lavée pour enlever l'anticorps marqué ¹²⁵I délié. Les tubes contenant les «intercalations» sédimentées sont ensuite comptés en utilisant un compteur gamma. La concentration de la substance à analyser est directement proportionnelle à la radioactivité liée de l'intercalation. Le dénombrement des calibrateurs est tracé et les échantillons se lisent sur la courbe des calibrateurs.

RÉACTIFS ELEGANCE FOURNIS, STABILITÉ ET RANGEMENT

Taille de la trousse – 125 tests. La trousse et toutes ses composantes, ouvertes et non ouvertes, devraient être rangées à 2 – 8°C jusqu'aux dates d'expiration énumérées.

IgE: Traceur

1 fiole REF # IEI1
26 mL contenant de l'anti IgE marqué ¹²⁵I (≤13μCi) dans un tampon BSA PBS, du sérum animal non immunisé et une teinture orange. Contient de l'acide de sodium (Na₃), 0,1% v/w.

Prêt à utiliser.

IgE: Phase solide

1 fiole REF # IEA1
26 mL contenant l'anti-corps anti-IgE couplé aux particules de polystyrène magnétisable dans un tampon BSA PBS. Contient (Na₃), 0,1% w/v. Mettre doucement en suspension avant l'utilisation.

Concentré de lavage

1 fiole REF # HW1
10 mL d'une solution de lavage concentrée 15 fois. Contient (Na₃), 1,5% w/v. À diluer avant l'utilisation.

IgE: Calibrateurs

7 fioles REF # IES10
5,0 mL dans le Calibrateur 1 et 1,0 mL dans les calibrateurs 2 – 7, chacun dans du sérum de cheval. Contient (Na₃), 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 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 de l'acide de sodium 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° 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
- Chronorégulateur
- Agitateur mélangeur Vortex
- Bain d'eau (37°C ± 2°C)
- Support magnétique ou centrifuge réfrigérante capable de 1500 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

N'utilisez pas l'agitateur magnétique pour mettre en suspension le réactif en phase solide. 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.

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.

Lavage

L'efficacité de l'étape de lavage est vitale pour une bonne précision.

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 6 mois.

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 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 calibreurs et contrôle peuvent être rangés à -20°C.

Protocole

1. Assembler et étiqueter les tubes de test en double selon le nombre de tests requis. Y inclure le compte total (TC), les calibreurs, les contrôles et les spécimens.
2. Ajouter avec l'aide d'une pipette 25 μL d'échantillon (calibrateur, contrôle et spécimen) en double dans les tubes de test appropriés.

3. Mettre en suspension l'IgE en phase solide en le tourbillonnant et par inversion répétée du contenu de la bouteille jusqu'à ce qu'aucun sédiment ne se trouve au fond – ne brasses pas vigoureusement ce réactif.
4. Ajouter avec l'aide d'une pipette 200 µL de phase solide sans IgE dans tous les tubes sauf TC.
5. Centrifuger au vortex les tubes doucement et laisser incubé pour 30 minutes 37°C.
6. Ajouter avec l'aide d'une pipette 200 µL de traceur IgE (jaune) dans tous les tubes. Mettez de côté les tubes TC.
7. Centrifuger au vortex les tubes doucement et laisser incubé pour 30 minutes à 37°C.
8. Il est possible d'effectuer la séparation de l'intercalation du marqueur anticorps délié soit par la séparation magnétique ou la centrifugation.

- b) Après la sédimentation, n'enlevez pas le support de la plaque de base magnétique. Transvaser le surnageant et, gardant la plaque de base magnétique renversé, faite écouler le liquide des tubes sur un papier absorbant pendant 2 minutes.
- c) Enlevez le support de sa plaque de base magnétique., Lavez les tubes en ajoutant 500 µL de solution de lavage dans tous les tubes. Centrifugez au vortex, transvasez et séchez comme ci-dessus.

OU

B. Centrifugation

- a) Centrifuger tous les tubes pour 5 minutes à 1500 x g dans une centrifugeuse réfrigérée (4°C). Transvaser le surnageant et permettez aux tubes de sécher sur du papier absorbant pour 2 minutes.
- b) Lavez les tubes en ajoutant 500 µL de solution de lavage à tous les tubes. Centrifugez au vortex, transvasez et séchez comme ci-dessus.
9. Comptez tous les tubes pour une minute en utilisant le compteur gamma. Enregistrez le cpm de chaque tube.
10. Calculez les résultats.

A. Séparation magnétique

- a) Placez les tubes dans un support de séparation magnétique et assurez-vous que tous les tubes soit en contact avec la plaque de base magnétique. Laissez pendant 5 minutes. La précision peut s'améliorer en augmentant le temps de sédimentation à 10 minutes.

CALCUL DES RÉSULTATS

Le calcul des résultats peut être fait manuellement s'il n'y a pas de réduction de données automatique. Les calibrateurs sont conçus pour permettre une dilution des échantillons dans une proportion de 1 pour 200.

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

Méthode 1

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

$$\%B/T = \frac{\text{cpm}(\text{Échantillon}) \times 100}{\text{cpm TC}}$$

Tracer %B/T sur l'axe y versus les concentrations énoncées des calibrateurs.

Méthode 2

Tracer la cpm sur l'axe y versus les concentrations énoncées des calibrateurs.

3. Lire les échantillons directement de la courbe des calibrateurs comme kIU/L.

MODÈLES DE CALCULS

ID	Moyenne cpm	% B/T	IgE kIU/L
TC	118080		
0	226	0,11	
2	520	0,44	
5	1057	0,90	
20	3521	2,98	
100	12944	10,96	
500	28952	24,52	
1500	35566	30,12	
Échantillon 1	10002	8,47	69,9
Échantillon 2	16141	13,67	139,2

CALIBRATION

Les calibrateurs fournis dans cette trousse sont calibrés et marqués kIU/L, en référence à la 2^e Préparation de référence internationale pour IgE 75/502.

LIMITATIONS

Les spécimens de sérum montrant une opacité, une hémolyse brute ou une hyperlipidémie 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 : Les niveaux IgE totaux ont été déterminés en utilisant la TROUSSE IRMA IgE TOTAL Bioclone dans le sérum de 45 donneurs de sang de la Croix Rouge qui ne rapportaient pas une évaluation anamnétique d'allergie.

Moyenne géométrique 32 kIU/L + ISD = 105 kIU/L
95% était moins de 220 kIU/L

CARACTÉRISTIQUES DE LA PERFORMANCE

Précision intra-dosage

Échantillon	n	Moyenne ± 2SD (kIU/L)	% CV
A	20	36,65 ± 0,73	2,2
B	20	173,60 ± 4,23	2,4
C	20	377,00 ± 11,54	3,1

Précision inter-dosage

Échantillon	n*	Moyenne ± 2SD (kIU/L)	% CV
A	13	27,9 ± 1,02	3,7
B	13	323,0 ± 19,20	5,9

*en duplicata,

Spécificité

Mélange à analyser	Concentration analysée	Résultat apparent IgE (kIU/L)
IgG	3,75 mg/mL	non détectable
IgA	0,29 mg/mL	non détectable
IgM	0,39 mg/mL	non détectable

Précision

La récupération a été calculée par le dosage avant et après l'addition d'un mélange à analyser (x) hexogène. 12,5 µL d'échantillon X a été ajouté à 12,5 µL de chaque calibre.

Échantillon	IgE (kIU/L) observé	IgE (kIU/L) attendu	% récupération
x(25µL)	287,4		
x(12,5µL) + 12,5µL	0	139,9	143,7
	2	145,7	144,7
	5	147,9	146,2
	20	150,2	153,7
	100	201,7	193,7
	500	389,3	393,7
	1500	790,8	893,7
			89

Dilution

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

Échantillon	IgE (kIU/L) Observé	IgE (kIU/L) attendu	% récupération
Net	448,8		
1/2	217,7	224,4	97
1/4	103,9	112,2	93
1/8	52,1	56,1	93
1/16	27,0	28,1	99

Haute dose à effet crochet

À cause de la haute dose à effet crochet caractéristique du dosage, les échantillons plus grands de 11 000 kIU/L peuvent porter des résultats aberrants, moins de celui du plus haut calibre des trousse. Ces échantillons doivent être dilués avec le calibre 0 et ensuite dosés de nouveau.

Sensibilité

La sensibilité du dosage est typiquement <0,32 kIU/L

La sensibilité est définie comme la concentration du mélange à analyser correspondant à la réponse de dosage variable qui est de deux déviations standard plus grandes que la réponse de dose moyenne variable de 10 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 et de la triglycéride jusqu'à 970 mg/dL.

INFORMATIONS POUR PASSATION DE COMMANDE

L'IgE IRMA 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