



TROUSSE IGF-I RIA

REF 10 IGF50
 Σ 50

REF 10 IGF100
 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

IGF-I RIA a été conçu pour l'évaluation quantitative *in vitro* de l'IGF-I (facteur de croissance semblable à l'insuline) dans le sérum ou le plasma.

PRINCIPES DU RIA

RIA est un système de dosage radio-immunologique anticorps double. La méthode comprend une simple étape d'extraction dans laquelle le IGF-I est d'abord séparé de sa protéine de liaison dans le sérum. Après la courte procédure d'extraction, le mélange à analyser se mesure à l'anticorps traceur marqué 125I pour la liaison avec une quantité constante d'anticorps. Un second anticorps couplé aux particules de polystyrène magnétisables (réactif de séparation) est utilisé pour séparer les anticorps libres de traceur marqué 125I de ceux qui sont liés au traceur marqué 125I. En suivant la sédimentation, le surnageant est jeté et le culot de centrifugation 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 – 50 tests et 100 tests (entre parenthèses).

La trousse et toutes ses composantes ouvertes ou non ouvertes devraient être rangées à

une température de 2 à 8°C jusqu'aux dates d'expiration énumérées.

IGF-I : Traceur :

1 fiole Ref IGII
(1 fiole Ref IG12)
5,5 (10,5) mL 125I ($\leq 135\text{kBq}$ / $\leq 270\text{kBq}$) des étiquetées IGF-I dans un tampon BSA PBS contenant une teinture rouge. Contient du Bronidox L, 0,05% w/v. Prêt à l'utilisation.

IGF-I : Antisérum

1 fiole Ref IGA1
(1 fiole Ref IGA2)
5,5 (10,5) mL contenant de l'antisérum IGF-1 de lapin dilué dans un tampon BSA PBS et une teinture bleue. Bronidox L, 0,05% w/v. Prêt à l'utilisation.

Réactif de séparation

1 fiole Ref SEP1
(1 fiole Ref SEP2)
13 (26) mL contenant de l'anticorps anti-lapin de chèvre associé à des particules de polystyrène magnétisable dans un tampon BSA PBS. Contient de l'acide de sodium, 0,1% w/v. Mettre en suspension doucement avant l'utilisation.

Solution d'alcool éthylique

1 fiole Ref IGAE1
(1 fiole Ref IGAE2)
20 (40) mL de 87,5% d'alcool éthylique dans du HCl dilué. Garder bien bouché. Prêt à l'utilisation.

Solution neutralisante

1 fiole Ref IGNS1
(1 fiole Ref IGNS2)
20 (40) mL de tampon Tris-phosphate. Prêt à l'utilisation.

Concentré de lavage

1 fiole Ref HW1

10 mL d'une solution de lavage concentrés 1 dans 15 fois. Contient de l'acide de sodium, 1,5% w/v. À diluer avant l'utilisation.

IGF-I : Calibreurs

7 fioles Ref IGSA-G

2,0 mL dans le Calibreur A et 0,5 mL dans le Calibreur B-G, chacun dans BSA PBS. Contient du Bronidox L, 0,05% w/v. Lyophilisé.

IGF-I : Sérum de contrôle

1 fiole Ref IGC1

0,5 mL de 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 rebus 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 a été trouvé 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 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 une température de 2 à 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
- Agitateur-mélangeur Vortex
- Banc à rouleaux
- Chrono-régulateur
- Centrifuge réfrigérante capable de 2000 x g
- Support magnétique
- 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 conseillées.

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

Solution de lavage

Diluer le concentré de lavage dans une proportion de 1 dans 15 fois dans de l'eau distillée. La solution de lavage peut être rangée à la température de la pièce (20-25°C) pour 3 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 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 une température de -20°C.

Réactif de séparation

Bien mélanger sur un banc à roulettes avant l'utilisation.

Préparation de l'échantillon / Procédure d'extraction

- Étiquetez les tubes d'extraction, un pour chaque spécimen et contrôles
- Ajouter avec l'aide d'une pipette 100 µL de specimen dans les tubes d'extraction.
- Ajouter avec l'aide d'une pipette 400µL de Solution d'acide ethanol. Boucher et mélanger au Vortex. Laisser à la température de la pièce (20-25°C) pour trente minutes
- Centrifuger au Vortex tous les tubes pour 20 minutes à 2000 x g dans un centrifugeur réfrigéré (4°C).
- Étiqueter plus de tubes pour tests, un pour chaque spécimen.
- Transférer soigneusement à 50 µL l'aliquote de chaque surnageant dans les tubes d'extraction appropriés.
- Ajouter avec l'aide d'une pipette 500 µL de Solution neutralisante pour chaque tube. Centrifuger au Vortex.

Ceci est l'extraction d'échantillon neutralisé.

Protocole Procédure de bio-test radio-immunologique

- Assembler et étiqueter les tubes de test en double selon le nombre de tests requis. Y inclure le compte total (TC), l'agglomérent non spécifique (NSB = Non-Specific Binding), les calibreurs, les contrôles extraits / spécimens.
- Ajouter avec l'aide d'une pipette 200 µL de calibreur A en double dans les tubes d'agglomérent non spécifique (NSB).
- Ajouter avec l'aide d'une pipette 100 µL d'échantillon (calibreur, contrôle extrait / spécimen) en double dans les tubes appropriés.

CALCUL DES RÉSULTATS

Le calcul des résultats peut être fait manuellement s'il n'y a pas de réduction de données automatique.

- Déterminer la moyenne de désintégration minute pour les tubes en double.
- 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 :
$$\%B/Bo = \frac{\text{désintégration minute (Échantillon)} - \text{dm (NSB)}}{\text{dm (Calibreur)A} - \text{dm (NSB)}} \times 100$$
- Tracer %B/Bo sur l'axe y versus les concentrations énoncées des calibreurs.
- Lire les échantillons directement de la courbe des calibreurs comme ns/mL.

MODÈLES DE CALCULS

Par jour	Moyenne désintégration min	%B/Bo (ng/mL)	IGF-I (ng/mL)
TC	89279		
NSB	628		
0	15922	100,0	
40	13493	84,1	46
100	10898	67,2	107
250	7078	42,2	273
500	4326	24,2	578
1000	2638	13,1	1129
2000	1753	7,4	2311
Contrôle	7804	46,9	227
Échantillon 1	10285	63,1	126

ÉTALONNAGE

Les calibreurs fournis dans cette trousse sont calibrés à (IRR IGF-I, 87/518 Est 1988). Ils sont étiquetés ng/mL.

Il est possible de faire la conversion des unités des calibreurs en utilisant les rapports suivants :

$$1 \text{ U/mL IGF-I} = 240 \text{ ng/mL IGF-I} = 31,38 \text{ nmol/L IGF-I}$$

- Ajouter avec l'aide d'une pipette 100 µL de traceur IGF-I (rouge) dans tous les tubes.
- Ajouter avec l'aide d'une pipette 10 µL d'Antiserum IGF-I (bleu) à tous les tubes sauf NSB et TC.
- Centrifuger au vortex les tubes doucement et laisser incubé pendant 2 heures (ou pendant toute la nuit immobiles) à la température de la pièce (20 – 25°C). Tous les tubes devraient être violets sauf les tubes TC et NSB.
- À la fin de la période d'incubation, ajouter avec l'aide d'une pipette 250 µL de la solution réactif de séparation parfaitement mélangée dans tous les tubes sauf les tubes TC et centrifuger au vortex. Mettez de côté les tubes TC et laissez les immobiles en incubation pour 15 minutes à la température de la pièce (20-25°C).

8a) Pour séparer les étiquettes des anticorps de celles des agglomérants, placer les tubes de test dans un support de séparation magnétique et s'assurer que tous les tubes de test sont en contact avec la plaque de base magnétique. Laisser pendant 2 minutes.

8b) Ne pas enlever le support de la plaque de base magnétique. Transvaser le surnageant et garder la plaque de base renversée. Tapoter fermement sur un tissu absorbant. Sécher les bords pour enlever tous les résidus de surnageant.

8c) Enlever le support de la plaque de base magnétique. Ajouter avec l'aide d'une pipette 500 µL de chaque solution à tous les tubes. Centrifuger au vortex, déposer les résidus sur la plaque de base magnétique, transvaser, décanter et assécher.

9. Compter les tubes pour une minute en utilisant un compteur gamma. Compter plus longtemps réduira l'erreur de compte statistique. Enregistrer la désintégration minute de chaque tube.

10. Calculer les résultats

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 :

Age (années) n	moyenne	Écart type	médiane	5 ^e centile	95 ^e centile
(Hommes et femmes)					
0	28	68,5	62,4	58,5	19,8
1 – 3	40	98,6	58,1	88,1	39,7
4 – 6	29	117,0	67,1	97,9	45,3
7 – 9	39	203,0	107,0	184,0	71,7
10 – 12	38	327,0	150,0	324,0	122,0
13 – 15	52	388,0	140,0	388,0	158,0
16 – 18	27	461,0	109,0	454,0	282,0
19 – 30	106	294,0	96,7	282,0	152,0
31 – 40	55	220,0	75,1	215,0	118,0
41 – 50	68	193,0	65,2	196,0	108,0
51 – 60	61	170,0	58,9	163,0	82,2
61 +	25	165,0	54,6	157,0	86,8
					241

CARACTÉRISTIQUES DE LA PERFORMANCE

Précision intra-dosage

Échantillon	n*	Moyenne	± 2SD (ng/mL)	% CV
A	22	70,4	± 3,8	5,4
B	22	123,0	± 5,2	4,2
C	22	225,0	± 7,7	3,4

Précision intra-dosage

Échantillon	n*	Moyenne	± 2SD (ng/mL)	% CV
G	36	77,6	± 4,6	5,9
H	36	135,0	± 7,5	5,6
I	36	227,0	± 9,8	4,3

*en duplicata, option du même jour

Spécificité

Mélange à analyser	Concentration analysée	apparent IGF-I
	analysée	Résultat
GH humain	1 000 nmol/L	non relevé
Prolactine	25 000 mIU//L	non relevé
IGFBP – 1	1 000 ng/mL	non relevé
IGFBP – 2	1 000 ng/mL	non relevé
IGF – II	4 000 ng/mL	non relevé

Précision

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

Échantillon	IGF – I (ng/mL) observé	IGF – I (ng/mL) attendu	% récupération
1	197	203	97,0
2	241	258	93,4
3	595	602	98,8

Dilution

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

Échantillon	IGF – I (ng/mL) observé	IGF – I (ng/mL) attendu	% récupération
Net	456		
½	233	228	102,0
¼	108	114	94,7

Sensibilité

La sensibilité, déterminée comme la concentration du mélange à analyser correspondant à deux déviations standard de la moyenne de la variable dépendante de la dose du calibreur zéro (n =20 ; mesuré dans neuf dosages) est typiquement moins de 1,0 ng/mL. En terme de concentration actuelle du IGF-I, la sensibilité est 0,018 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 de la triglycéride jusqu'à 970 mg/dL.

INFORMATIONS POUR PASSATION DE COMMANDE

L'IGF – I 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.KBIGF Ed6

Date de révision : 31 Mars 2006