

Dosage enzymatique de l'activité totale de la voie classique du complément dans le sérum humain

Pour utilisation *in vitro*

RÉSUMÉ

Préparation des Réactifs, Standards, Contrôles et échantillons

- Diluer la Solution de Lavage concentrée 1:20 à l'aide d'eau désionisée
- Reconstituer chaque Contrôle à l'aide de 100 µl d'eau distillée ou désionisée (Laisser reposer pendant 15 minutes à température ambiante. Mélanger au Vortex, puis placer sur de la glace)

Dosage

Mélanger l'Activateur pendant toute la durée de son utilisation

Pipeter **86 µl** d'Activateur dans des tubes ou des puits servant à l'activation

Pipeter **14 µl** de Contrôles non dilués et d'échantillons non dilués dans les tubes ou les puits servant à l'activation et mélanger doucement

Couvrir les tubes ou les puits servant à l'activation et incuber **60 ± 1 minutes** à 37 °C (On peut conserver ces échantillons activés, non dilués 14 jours à ≤ -20° C)

- Diluer les Contrôles activés et les échantillons activés **1:200** à l'aide du Diluant par échantillon dans de nouveaux tubes ou puits servant à la dilution
REMARQUE : le schéma de dilution recommandé est un échantillon activé de 5 µl ou un contrôle + 995 µl de diluant d'échantillon

Ajouter environ **~300 µl** de Solution de Lavage dans les puits servant au dosage

Incuber **2 minutes** à 20 °C à 27 °C

Éliminer le liquide des puits (Inverser les puits sur du papier absorbant)

Pipeter **100 µl** de Diluant pour échantillon (blanc), Standards, Contrôles activés et dilués et échantillons activés et dilués dans les puits servant au dosage

Incuber per **60 ± 1 minutes** à 20 °C à 27 °C

Laver à **7 reprises** à l'aide de la Solution de Lavage (en incubant la première fois pendant 1 minute)

Pipeter **50 µl** Conjugué

Incuber **60 ± 1 minutes** à 20 °C à 27 °C

Laver à **7 reprises** à l'aide de la Solution de Lavage (en incubant la première fois pendant 1 minute)

Pipeter **100 µl** de Solution de Substrat

Incuber **15 ± 1 minutes** à 20 °C à 27 °C

Pipeter **100 µl** de Solution d'Arrêt

Lire la densité optique à **450 nm**
Analyser les résultats obtenus à l'aide d'une équation linéaire
($y = mx + b$)

Le dosage EIA MicroVue quantifie l'activité totale de la voie classique du complément dans le sérum humain et permet de détecter une carence en un ou en plusieurs des composants C1 à C9 du complément.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

La liaison du composant C1q du C1 aux complexes immuns active la voie classique du complément. Cette activation entraîne une cascade de réactions enzymatiques et non enzymatiques aboutissant à la formation de complexes terminaux du complément (TCC). Dans des conditions normales, le taux de TCC généré dans un échantillon de sérum est l'expression quantitative de l'activité totale du complément dans cet échantillon.

On mesure habituellement l'activité totale du complément par le test CH50.¹ Ce test est un dosage lytique, qui utilise des érythrocytes de mouton sensibilisés par des anticorps pour activer la voie classique du complément, ainsi que différentes dilutions du sérum à analyser afin de déterminer la quantité nécessaire pour provoquer 50 % de lyse. Le pourcentage d'hémolyse est déterminé à l'aide d'un spectrophotomètre. Le test CH50 mesure indirectement le taux de TCC, puisque ces derniers sont à l'origine de l'hémolyse que l'on mesure.

Le dosage EIA MicroVue permet de mesurer directement l'activité totale du complément dans le sérum en quantifiant les TCC formés dans des conditions standard. Le dosage EIA MicroVue utilise un anticorps monoclonal anti-néo antigène particulier pour capturer les TCC. Étant donné que les tests CH50 Eq et CH50 reposent tous deux sur la formation de TCC et sont étroitement liés, les résultats du dosage EIA CH50 Eq sont exprimés en équivalents d'unités CH50 par millilitre.

PRINCIPE DU PROCÉDE

Le dosage EIA MicroVue CH50Eq qui permet de quantifier l'activité totale du complément dans le sérum humain comprend trois étapes de base : (1) l'activation du complément ; (2) la dilution de l'échantillon ; et (3) la mesure des complexes terminaux du complément (TCC).

Pour activer la voie classique du complément, on ajoute les échantillons de sérums humains non dilués et les Contrôles dans les puits d'une microplaque ou dans des tubes à essais contenant de l'activateur. Pendant l'incubation, la voie classique du complément est activée et des TCC se forment.

Lors de la deuxième étape, les échantillons de sérums activés sont dilués dans les puits d'une microplaque ou dans des tubes à essais, puis ajoutés, ainsi que les Standards du kit, directement dans les puits de la microplaque du dosage. Les TCC présents dans l'échantillon activé se lient aux anticorps monoclonaux recouvrant les parois des puits de la microplaque.

Lors de la troisième étape, on lave la microplaque contenant les TCC et on ajoute le conjugué-HRP qui va à son tour se fixer sur les TCC liés. Après le lavage, on ajoute un substrat enzymatique chromogénique dans la plaque. Après incubation, on ajoute un réactif pour stopper le développement de la coloration. Les valeurs d'absorption (A_{450}) obtenues pour les contrôles, les Standards du kit et les échantillons, sont mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre. L'intensité de la coloration du mélange est proportionnelle à sa concentration en TCC et au nombre d'unités CH50. Les résultats du dosage sont exprimés en équivalents d'unités CH50 par millilitre (U Eq de CH50/ml) à l'aide de la courbe standard du kit.

REACTIFS ET MATERIAUX FOURNIS

Le kit de dosage EIA MicroVue contient les éléments suivants :

A	Standards	Réf. A3719–A3723	1 chacun x 1.5 ml
B	Chacun contient du sérum humain dont on connaît le nombre d'unités équivalentes de CH50 par ml (U Eq/ml), et des stabilisants protéiques		
C			
D			
E			
N	Normal Controls		
	Contrôle normal	Réf. A3724	3 chacun flacons x 100 µl
	(lyophilisé) Après reconstitution, chacun d'entre eux contient du sérum humain		
L	Low Controls		
	Contrôle Faible	Réf. A3725	3 chacun flacons x 100 µl
	(lyophilisé) Après reconstitution, chacun d'entre eux contient du sérum humain		

1	Microassay Plate Microplaque	Réf. A3840	1
	Plaque de 96 puits avec portoir et support composée de 12 bandes de huit puits enduits d'anticorps monoclonal de souris, dans une pochette en aluminium refermable		
2	Stop Solution Solution d'arrêt	Réf. A9947	12 ml
	Contient de l'acide chlorhydrique 1N (4 %)		
3	20X Wash Solution Concentrate Solution de Lavage concentrée 20X	Réf. A9957	2 chacun flacons x 50 ml
	Chacun contient une solution de tampon phosphate (PBS), 1.0 % de Tween-20® et 0.035 % de ProClin® 300		
4	Complement Specimen Diluent Diluant pour échantillon	Réf. A3670	50 ml
	Contient du PBS, 0,05 % de Tween-20, 2,5 % de stabilisants protéiques et 0,035 % de ProClin 300		
5	TMB Substrate Substrat TMB	Réf. 5059	12 ml
	Contient du 3,3',5,5' tétraméthylbenzidine (TMB) et du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)		
6	Conjugate Conjugué	Réf. A3726	7 ml
	Contient un conjugué de peroxydase de raifort et d'anticorps (de chèvre) anti-TCC		
7	Activator Activateur	Réf. A3718	10 ml
	Contient des gammaglobulines humaines et des anticorps monoclonaux murins dans une solution de tampon phosphate (PBS) avec 0,02 % d'azide de sodium		
	Tween-20® est une marque d'ICI Americas Inc. ProClin® est une marque de Rohm and Haas Company.		

MATÉRIAUX NÉCESSAIRES NON FOURNIS

- Minuteur (60 minutes)
- Calculateur ou logiciel permettant de valider l'essai
- Microplaques à usage unique et/ou tubes à essais et portoirs
- Récipient pour dilution de la solution de lavage
- Flacon de lavage ou tout autre équipement de lavage adapté aux dosages immunologiques
- Pipettes multicanaux réglables (8 ou 12 canaux) ou micropipettes automatisées (en option)
- Pipettes de 1 ml, 5 ml, et 10 ml
- Embouts de micropipettes et de pipettes
- Lecteur de plaque capable de lire des densités optiques A₄₅₀ comprises entre 0,0 et 3,0
- Eau désionisée ou distillée
- Incubateur ou Plaque chauffante pour microplaque (37 °C)
- Bain-marie (37 °C)

ATTENTION

- Pour utilisation *in vitro*.
- Traiter les échantillons comme du matériel potentiellement contaminant. Suivre les précautions standard lors de la manipulation du contenu de ce kit et de tous les échantillons de patients.⁴
- Porter une blouse, des gants et des lunettes de protection appropriés lors de la manipulation du contenu de cette trousse.
- Utiliser ensemble tous les réactifs fournis avant la date de péremption indiquée sur l'étiquette de la boîte.
- Stocker les réactifs comme indiqué.
- Ne pas utiliser les barrettes de puits enduites si leur emballage est abîmé.
- Le ProClin® 300 est un conservateur. Tout contact ou toute ingestion accidentels de tampons ou de réactifs contenant du Proclin peut provoquer une irritation de la peau, des yeux ou de la bouche. Le respect des bonnes pratiques de laboratoire permet de réduire l'exposition. Consulter un médecin en cas d'observation de ces symptômes.

- La solution d'arrêt est une solution corrosive et peut provoquer une irritation de la peau. Ne pas ingérer. Eviter le contact avec la peau, les yeux ou les vêtements. En cas de contact, laver à l'eau. En cas d'ingestion, appeler un médecin.
- Chacun des prélèvements utilisés dans la préparation des Standards et des Contrôles de ce kit provient d'un donneur individuel, et a subi à l'aide d'une méthode approuvée par la FDA un dépistage négatif pour HIV1, HIV2, HCV et HBsAg. Mais ces réactifs doivent cependant être manipulés comme des produits potentiellement infectieux, car aucun test ne peut garantir l'absence totale de ces agents infectieux.
- L'utilisation de pipettes multicanaux ou de pipettes automatiques est recommandée pour assurer la distribution rapide des réactifs.
- Pour une mesure exacte des échantillons, ajouter les échantillons et les Standards avec précision. Pipeter avec soin, en utilisant du matériel calibré.
- Pour obtenir des résultats précis, Il est indispensable de recueillir et de conserver correctement les échantillons. (Se reporter au paragraphe « *RECUEIL ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS* »).
- Éviter toute contamination microbienne ou croisée des échantillons, des réactifs et du matériel. En cas de contamination, des résultats inexacts pourraient être obtenus.
- Doser chaque échantillon en double.
- Ne pas réutiliser un puits pour un deuxième test.
- Toute modification du temps et de la température d'incubation indiqués dans le paragraphe *DOSAGE* est susceptible de conduire à des résultats erronés.
- Le substrat TMB doit être protégé de la lumière pendant le stockage et l'incubation. Éviter le contact avec les yeux, la peau et les vêtements. En cas de contact, rincer immédiatement la zone concernée à l'eau .
- Ne pas laisser les puits sécher pendant le dosage.
- Ne pas gratter ou toucher le fond des puits en ajoutant ou en aspirant les liquides.
- Des échantillons inactivés par la chaleur, hyper lipidiques ou contaminés, peuvent entraîner des résultats erronés.
- Afin d'éviter la production d'aérosols pendant le lavage, aspirer le liquide de lavage dans un flacon contenant de l'eau de Javel.
- Utiliser un flacon de lavage ou un dispositif de remplissage automatique pour laver la microplaque (*DOSAGE*, étape9). Pour obtenir des résultats optimaux, ne pas utiliser de pipettes multicanaux pour laver la microplaque.
- Éliminer les récipients et leur contenu inutilisé selon la réglementation en vigueur.

CONSERVATION

Conserver le kit à 2 °C à 8 °C avant l'ouverture. Après ouverture du kit, la Solution de Lavage concentrée 20X peut être conservée à 2 °C à 30 °C.

Après avoir pris les réactifs ou les barrettes nécessaires au dosage, replacer immédiatement les réactifs non utilisés à la température de conservation appropriée. Amener les réactifs et les barrettes à température ambiante (20 °C à 27 °C) avant leur utilisation.

SIGNES D'INSTABILITÉ OU DE DÉTÉRIORATION DES RÉACTIFS

Éliminer la solution de lavage si on observe l'apparition de trouble ou de décoloration.

Il arrive que l'activateur contienne des particules. Cela est tout à fait normal et n'influence en rien la performance du dosage.

RECUEIL ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

Pour ce dosage, utiliser du sérum comme échantillon. Il n'est pas possible d'utiliser du plasma.

Manipuler et éliminer tous les échantillons selon la réglementation en vigueur. Il est très important de prélever, traiter, conserver et transporter les échantillons avec soin, étant donné qu'une manipulation inappropriée de ces derniers peut activer le complément. Cela peut entraîner des résultats erronés.

Les échantillons doivent être prélevés de façon aseptique, et préparés selon les techniques standard. On peut conserver les échantillons 2 heures à température ambiante, 4 heures sur de la glace, 3 jours à 4°C, ou bien au minimum à -70°C pour une conservation plus longue. Ne pas congeler/décongeler à plus de 6 reprises. Les échantillons congelés doivent être testés dès que possible après avoir été décongelés, ou bien conservés sur de la glace (pendant quatre heures maximum) avant d'être testés.

Les échantillons doivent être placés dans de la carboglace pour le transport. La qualité des échantillons qui parviennent décongelés au laboratoire risque d'être altérée. Après réception, les échantillons peuvent être conservés à -70°C.

PREPARATION DES REACTIFS

Après avoir choisi les réactifs et les barrettes nécessaires au dosage, replacer immédiatement les produits inutilisés à la température de conservation appropriée (voir la partie *CONSERVATION*). Amener les réactifs et les barrettes à température ambiante (20 °C à 27 °C) avant utilisation.

1. Solution de lavage

Mélanger la Solution Concentrée de lavage 20X en inversant à plusieurs reprises le flacon. Si la Solution de Lavage concentrée 20X a été conservée à 2° C à 8 °C, on peut observer la formation de cristaux. Pour les dissoudre, placer le flacon au bain-marie à 37° C à 50 °C jusqu'à dissolution complète et mélanger avec soin. Préparer la solution de lavage en diluant le contenu d'un flacon de Solution de Lavage concentrée 20X avec de l'eau distillée ou désionisée jusqu'à obtention d'un litre de produit. Bien mélanger. La solution de lavage est stable 30 jours à 2 °C à 8 °C, conservée dans un récipient propre. Eliminer le réactif en cas d'apparition de trouble ou de décoloration.

2. Sélection des barrettes de puits

Déterminer le nombre de barrettes nécessaires pour le dosage. Il est recommandé de doser en double les blancs, les Contrôles et les Standards. Refermer avec soin la pochette contenant le reste des barrettes et la replacer à 2° C à 8 °C.

Placer les barrettes destinées au dosage sur le support

3. Dilution de l'échantillon

ATTENTION : Traiter tous les échantillons comme potentiellement infectieux. Ne pas utiliser des échantillons inactivés par la chaleur, contaminés ou mal conservés.
Il est nécessaire d'utiliser Des échantillons de sérum pour ce dosage.

Les échantillons de sérum doivent être décongelés rapidement dans un bain-marie à 37 °C. Dès que l'échantillon est décongelé, le déposer sur de la glace jusqu'à l'étape d'activation (voir le paragraphe *DOSAGE*). Ne pas diluer les échantillons à analyser avant l'activation.

4. Préparation des contrôles Normal et Faible

Ajouter 100 µl d'eau désionisée ou distillée dans chaque flacon de Contrôles normal et Faible lyophilisés. Mélanger brièvement afin de bien les reconstituer et laisser reposer pendant quinze (15) minutes à température ambiante. Mélanger à nouveau, puis poser sur de la glace jusqu'à la phase d'activation.

DOSAGE

Lire la notice produit dans son intégralité avant de commencer le dosage.

Voir les parties *PRÉPARATION DES RÉACTIFS* et *ATTENTION* avant de poursuivre.

- 1. Activation des échantillons et des contrôles.** Mélanger l'activateur, qui contient des particules en suspension, en remuant le flacon avant son utilisation. Le remuer fréquemment pendant cette étape afin que les particules restent en suspension. Ajouter 86 µl d'activateur dans le nombre requis de tubes à essais ou de puits.* Ajouter ensuite 14 µl d'échantillons de sérum non dilués, de contrôle normal ou de Contrôle Faible dans les tubes à essai ou dans les puits contenant l'activateur. Mélanger doucement. Couvrir afin de limiter l'évaporation. Incuber à 37 °C pendant soixante (60) minutes. (**PRATIQUE** : Si vous souhaitez faire des séries d'échantillons, vous pouvez conserver les échantillons non dilués et activés à -20 °C minimum pendant 14 jours maximum, juste après l'activation, et avant de passer aux étapes suivantes.)

*Le nombre de tubes à essais ou de puits nécessaires pour l'activation correspond au nombre d'échantillons à analyser plus deux (2), pour l'activation des deux Contrôles.

2. **Dilution des échantillons et des contrôles activés.** Après l'activation, diluer les échantillons et les contrôles activés à 1:200 avec du diluant pour échantillon dans des tubes à essais ou des puits propres et non utilisés.
REMARQUE : le schéma de dilution recommandé est un échantillon activé de 5 µl ou un contrôle + 995 µl de diluant d'échantillon.
3. Préparer des barrettes de puits comme indiqué ci-après :
 - a. Réhydrater les puits de la microplaque en les remplissant de solution de lavage (250 à 300 µl/puits) à l'aide d'un flacon de lavage ou d'un équipement de lavage automatique.
 - b. Incuber à température ambiante (20 °C à 27 °C) pendant deux minutes.
 - c. Eliminer le liquide contenu dans les puits.
 - d. Retourner la plaque et la taper sur du papier absorbant à plusieurs reprises afin d'éliminer toute trace de liquide.
4. Ajouter 100 µl de diluant pour échantillon dans deux puits qui serviront de blanc pour le lecteur de plaque.
5. Ajouter 100 µl de chaque Standard prêt à l'emploi (A-E) dans des puits en double. **Remarque : les Standards sont déjà dilués et prêts à l'emploi.**
6. Ajouter 100 µl des contrôles Normal et Faible dilués et activés dans des puits en double.
7. Ajouter 100 µl de chaque échantillon dilué dans les deux puits de la microplaque qui lui ont été attribués.
8. Incuber à température ambiante (20 °C à 27 °C) pendant 60 minutes ± 1 minute.
9. Laver les puits de la microplaque de la façon suivante : **Remarque : Il n'est pas recommandé de se servir d'une pipette multicanaux pour cette étape**
 - a. Après l'incubation de l'étape 8 (ou de l'étape 12 ci-après), éliminer le liquide contenu dans les puits.
 - b. Remplir chaque puits de solution de lavage (250-300 µl/puits) à l'aide d'un flacon de lavage, d'un laveur automatique de microplaque ou de tout autre équipement de lavage.
 - c. Incuber les puits pendant 1 minute à température ambiante (20 °C à 27 °C).
 - d. Eliminer le liquide contenu dans les puits.
 - e. Remplir tous les puits de solution de lavage (250-300 µl/puits).
 - f. Eliminer le liquide contenu dans les puits.
 - g. **Répéter les étapes e à f encore cinq fois.**
 - h. Après le septième cycle de lavage, retourner la plaque et la taper sur du papier absorbant à plusieurs reprises afin d'éliminer toute trace de liquide.
10. Ajouter 50 µl de conjugué dans chaque puits lavé, y compris dans le(s) blanc(s), à l'aide d'une pipette multicanaux ou automatisée.
11. Incuber les barrettes à température ambiante (20 °C à 27 °C) pendant 60 minutes ± 1 minute.
12. Laver les puits de la microplaque après l'incubation de 60 minutes, comme décrit dans l'étape 9.
13. Immédiatement après le lavage, ajouter 100 µl de substrat TMB dans chaque puits, y compris dans le(s) puits correspondant aux blancs.
14. Incuber les barrettes à température ambiante (20 °C à 27 °C) pendant 15 minutes ± 1 minute.
15. Ajouter 100 µl de solution d'arrêt dans chaque puits pour arrêter la réaction enzymatique. La solution d'arrêt doit être ajoutée dans les puits dans le même ordre et au même rythme que l'a été le substrat. Taper doucement la plaque pour que la couleur se propage régulièrement.
16. Lire l'absorption à 450 nm (valeur de A_{450}) pour chaque puits dans l'heure qui suit l'addition de la solution d'arrêt, en faisant une correction pour les blancs. Aucun filtre de référence n'est nécessaire.
17. Eliminer les échantillons, l'activateur et les contrôles dilués restant, ainsi que les barrettes utilisées (voir la partie **ATTENTION**). Garder le portoir et le support de barrettes pour une utilisation ultérieure.

CONTROLE QUALITE

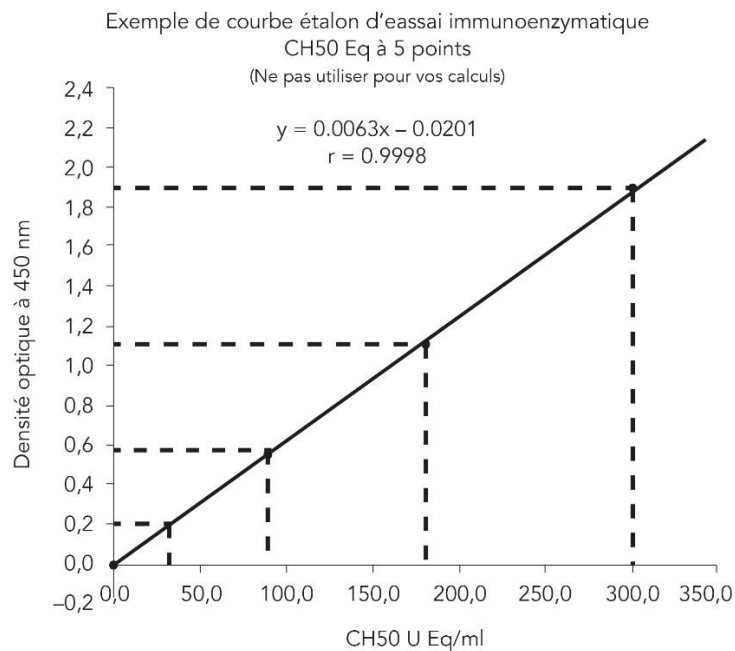
Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent l'utilisation des contrôles pour s'assurer que le dosage fonctionne correctement. Chaque kit EIA CH50 Eq contient un contrôle normal et un contrôle faible pouvant être utilisés à cet effet. Ces contrôles doivent être testés au moins une fois pour chaque lot d'échantillons, c'est-à-dire pour chaque procédure d'activation. Les contrôles, lorsqu'ils sont utilisés conformément aux instructions, doivent donner des valeurs en unité équivalente de CH50 situées dans les plages qui figurent sur le certificat d'analyse. Puisque ces contrôles doivent être activés, dilués et testés exactement comme un échantillon type, ils servent à la fois de contrôles et de standards de référence pour chaque activation et pour chaque série EIA de CH50 Eq. Des contrôles externes, préparés par votre laboratoire, peuvent également être utilisés pour s'assurer du bon fonctionnement du dosage.

De plus, la notice du produit exige que la courbe standard générée à l'aide des Standards A à E du kit corresponde à des critères de validation rigoureux (voir la partie **INTERPRETATION DES RESULTATS**). Les Standards doivent être dosés en double dans chaque série de dosages. Si le dosage ne respecte pas ces critères, refaire le dosage ou contacter le Service Technique de Quidel.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Utilisation de la courbe standard : On trace la courbe standard du dosage EIA de CH50 Eq en plaçant sur l'axe des y les valeurs A_{450} de chaque Standard (dont on aura préalablement soustrait la valeur du blanc), et sur l'axe des x la concentration correspondante. La courbe standard doit remplir les critères de validation. La plupart des ordinateurs et des calculateurs peuvent effectuer ces calculs. On trouvera ci-dessous un exemple de courbe standard (Figure 1).

Figure 1
Exemple de courbe standard



Calcul du taux de U Eq de CH50 dans les échantillons de patients : Les valeurs pour chaque échantillon sont calculées à partir de la courbe standard, grâce à une analyse par régression linéaire. Si les échantillons à analyser ont été activés et dilués à 1:200 avant d'être testés, on peut lire le taux en U Eq de CH50/ml directement sur la courbe standard. On peut également lire les valeurs (U Eq/ml) pour les contrôles Normal et Faible directement sur la courbe standard, si ceux-ci ont également été dilués à 1:200.

Si la valeur obtenue à A_{450} d'un échantillon donné est supérieure à celle du Standard E le plus élevé du kit de dosage EIA CH50 Eq (ou inférieure à celle que l'on obtient pour le Standard A), on redosera l'échantillon en modifiant la dilution, afin d'obtenir des valeurs de A_{450} comprises dans ces limites. Il faudra redoser également les Standards et les Contrôles.

Si un échantillon est testé à une dilution autre que 1:200, le taux de CH50 de l'échantillon est calculé en tenant compte de la différence entre la dilution testée et la dilution à 1:200 habituelle. Par exemple, si un échantillon est dilué à 1:100 au lieu de la dilution habituelle de 1:200, et que la courbe de régression linéaire indique une concentration de 100 U Eq de CH50/ml, alors le taux réel de U Eq de CH50/ml dans l'échantillon est de 50 (soit 100 U Eq de CH50/ml divisé par 2).

Validation

Calculer le taux en U Eq de CH50 /ml pour les contrôles Normal et Faible. Déterminer également le coefficient de corrélation (r) et le point d'intersection sur l'axe des y (b) de la meilleure courbe linéaire obtenue pour les valeurs des Standards A à E. Pour que le dosage soit validé, les valeurs r et b , et celles des Contrôles, doivent se situer entre les limites indiquées ci-dessous :

Coefficient de corrélation (r) : $> 0,96$

Intersection sur l'axe des y (b) : de $(-),090$ à $(+),068$

pende (m) : $0,0033 - 0,0089$

Valeurs des Contrôles normal et Faible : Dans les plages spécifiées sur le certificat d'analyse.

LIMITES DU PROCÉDÉ

Le dosage EIA MicroVue CH50 Eq a été utilisé pour doser des échantillons de sérum. On n'a pas testé d'échantillons de plasma préparés avec différents anticoagulants.

VALEURS ATTENDUES

Deux cent trente-quatre (234) échantillons de sérums normaux ou anormaux ont été testés par Quidel à l'aide du dosage EIA CH50 Eq. La valeur moyenne obtenue pour les échantillons normaux était de 133 ± 54 U Eq de CH50/ml. À titre indicatif, le seuil obtenu à l'aide d'une analyse ROC² avec ces échantillons de sérums normaux et anormaux était de 70 U Eq de CH50/ml. Chaque laboratoire doit établir ses propres normales.

Deux cent vingt-et-un (221) échantillons prélevés sur des patients ont été testés à l'aide du dosage EIA MicroVue CH50 Eq dans l'un des principaux laboratoires de référence des États-Unis. À partir du seuil établi de 70 U Eq de CH50/ml et de l'analyse ROC, l'exactitude du dosage EIA CH50 Eq, en comparaison avec les résultats combinés de trois tests hémolytiques et d'un dosage EIA, était supérieure à 97 %.

Selon les méthodes classiques de mesure de la performance clinique, le dosage EIA MicroVue CH50 Eq a fait preuve également d'un degré de précision clinique supérieur à 97 % avec une sensibilité de 93,2 % et une spécificité de 99,4 %. Le test de régression de Passing Bablok³ indique que les valeurs U Eq de CH50 obtenues avec le dosage EIA MicroVue étaient très proches des valeurs de CH50 obtenues avec le test hémolytique classique réalisé par le laboratoire clinique, avec un seuil de significativité de $p < 0,001$.

CARACTÉRISTIQUES DU DOSAGE

Précision

On a dosé à 16 reprises 4 échantillons de sérum (Précision intra-essai) et on a dosé ces mêmes échantillons dans 10 dosages différents (Précision inter-essais).

Echantillon	CH50 (U Eq/ml)	CV Intra-essai ¹ (%)	CV Inter-essais ² (%)
Sérum	150,4	3,2	6,0
	59,96	4,5	5,4
	98,84	3,6	8,7
	48,86	3,9	6,2

¹n = 16

²n = 10 dosages

ASSISTANCE

Pour une commande ou pour une question technique, veuillez contacter votre distributeur local. Vous trouverez les informations sur Quidel, ses produits et ses distributeurs sur le site quidel.com.

RÉFÉRENCES

1. Mayer, M.M. Complement and Complement Fixation. In: Kabat E.A., Mayer, M.M., eds. *Experimental Immunochemistry*. 2nd ed. Springfield: Charles C Thomas, 1961:133-71.
2. "Assessment of the Clinical Accuracy of Laboratory Tests Using Receiver Operating Characteristic (ROC) Plots." Tentative Guideline, Dec. 1993. *NCCLS Document GP109-T*, Vol. 13, No 28.
3. Passing, H. And W. Bablok. "A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 21(1): 709-720 (1983).
4. Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *MMWR* 1987;36 (suppl no. 2S):001.

MicroVue est une marque commerciale déposée de Quidel Corporation. Toute autre marque citée dans ce document est la propriété de son détenteur respectif et son utilisation dans le présent document n'implique pas le parrainage ou l'approbation d'un quelconque produit ou service.

REF

A018 – MicroVue CH50 Eq EIA Kit

IVD



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germania



Quidel Corporation
2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701 USA
quidel.com

PIA018003FR00 (09/21)

REF

Référence catalogue



Conformité Européenne

EC REP

Représentant autorisé dans
la Communauté Européenne

LOT

Référence du lot



Date d'expiration



Fabricant



Conditions de stockage



Utilisation prévue



Consulter les instructions
électroniques



AVERTissement: Nocif en cas
d'ingestion (orale)



Risques biologiques

IVD

Pour utilisation *in vitro*



Contenu suffisant pour 96 déterminations

CONT

Contenu

CONTROL

Contrôle
