



Dr. Fenning
BioMed GmbH

fr-elisa

Autoimmune-Diagnostic

β 2-Glycoprotein 1-IgM

11023

Test Immunologique Enzymatique pour la Détection de β 2-Glycoprotéine 1-IgM

N° Produit 11023

Remarques importantes:

- Avant utilisation, lire attentivement les instructions pour le fr-elisa.
- Le kit doit être conservé entre 2-8°C. Ne pas congeler.
- Veuillez contrôler la date de péremption de chaque réactif et ne pas les utiliser si elle est dépassée.
- Porter le contenu du kit à température ambiante!
- Toujours ouvrir l'emballage de la plaque de micro-titration après avoir atteint la température ambiante.
- Le tampon de lavage et le tampon d'échantillon sont présentés sous une forme plus concentrée par rapport aux dilutions de travail requises dans le test. Après dilution des solutions concentrées, veuillez tenir compte des dates de péremption suivantes: le tampon d'échantillon ainsi que le tampon de lavage dilués doivent être conservés entre 2° et 8°C pendant 2 semaines maximum.
- Ne pas mélanger les réactifs de différents lots de kits de test fr-elisa.

Généralités:

De nouvelles preuves sont apparues que la présence d'anticorps anti-phospholipides n'est peut-être pas la seule cause impliquée dans les désordres thrombotiques auto-immunitaires. Il a été récemment démontré que la liaison des anticorps anti-cardiolipine dépend de la présence du cofacteur β 2-glycoprotéine 1 (β 2-GP 1 aussi connu comme apolipoprotéine H). La β 2-glycoprotéine 1 est une protéine de 326 acides aminés avec un poids moléculaire apparent de 50 kD. Certaines études suggèrent que la β 2-glycoprotéine 1 est le véritable antigène cible pour les anticorps anti-phospholipides, tandis que d'autres postulent que c'est la formation d'un complexe cardiolipine / β 2-glycoprotéine 1 qui est l'antigène cible. Toutefois, la liaison de la β 2-glycoprotéine 1 aux lipides ou aux surfaces anioniques est généralement considérée comme essentielle pour différencier les anticorps anti-cardiolipine associés aux maladies auto-immunitaires et les anticorps anti-cardiolipine associés aux maladies infectieuses telles que la tuberculose, la lèpre, la maladie de Lyme, le SIDA, la mononucléose, l'hépatite, etc. La β 2-glycoprotéine1 sans phospholipides est plus spécifique pour détecter une thrombose veineuse ou artérielle potentielle. Cette spécificité a été démontrée par une corrélation étroite entre le lupus anticoagulant et les anticorps anti- β 2-glycoprotéine 1. Dans cette étude, 88% des sérums positifs pour les anticorps anti- β 2-glycoprotéine 1 montraient aussi une activité lupus anticoagulant, tandis que 18% seulement des sérums positifs pour l'activité lupus anticoagulant étaient négatifs pour les anticorps anti- β 2-glycoprotéine 1. Le test des auto-anticorps β 2-glycoprotéine 1 est donc plus spécifique et est pratique à utiliser en supplément des tests anti-cardiolipine et lupus anticoagulant traditionnels pour déterminer le risque de thrombose dans une population à risque.

- MC NEIL HP, SIMPSON RJ, CHESTERMAN CN and KRILIS SA: 1990 *Proc Natl Acad Sci, USA* 87: 4120- 4124
- GALLI M, COMFUTIUS P, MAASSEN C, HEMKER HC, DE BAETS MH, VAN BREDA-VRIESMAN PJC, BARBUI T, ZWAAL RFA and BEVERS EM: 1990 *Lancet* 335: 1544-1547
- MATSUURA E, IGARASHI Y, FUJIMOTO M, ICHIKAWA K and KOIKE K: 1990 *Lancet* 336: 177-178
- ERICSON E, NAJMEY S, KEIL L, EL-KADI H and DE BARI: 1996 *Clinical Chemistry*, 42: 1-2
- VIARD JP, AMOURA Z and BACH JF: 1992 *Am J Med*.93: 181-186

Principe de la Méthode:

Les kits sont des tests immunologiques enzymatiques en phase solide. Les puits de la micro- plaque recouverts d'antigènes sont incubés avec les étalons, les contrôles et les échantillons de sérum des patients. Durant l'incubation, les anticorps présents dans l'échantillon se lient aux puits recouverts. Le conjugué (anti-IgM humaines couplés à la peroxydase de raifort) est incubé dans les puits pour reconnaître les auto-anticorps liés aux puits recouverts. A la fin de chaque incubation, le matériel non lié est enlevé par aspiration et lavage. Un chromogène est ajouté et les auto-anticorps sont mesurés en utilisant un lecteur de plaque spectrophotométrique. L'étalonnage des étalons est basé sur les sérums Sapporo EY2C9 standards reconnus internationalement (0,0075 μ g équivalent à 10 SM U/ml).

Contenu du Kit de Test:

- 12 x 8 bandelettes de micro-titration recouvertes, préfixées sur le support
- 4 x étalons, prêts à l'emploi 3.125 SM U/ml; 12.5 SM U/ml; 50 SM U/ml; 100 SM U/ml; 1000 μ l chacun. **Remarque: La courbe d'étalonnage doit être préparée pour 4 + 1 étalons; le tampon de dilution de l'échantillon (prédilué) est utilisé comme "étalon zéro".**
- 1 x sérum contrôle négatif; prêt à l'emploi; 1000 μ l
- 1 x sérum contrôle positif; prêt à l'emploi; 1000 μ l
- 1 x tampon de dilution de l'échantillon (couleur **ocre**); concentré 5 fois; 20ml
- 1 x solution de conjugué (couleur **verte**); 15ml
- 1 x tampon de lavage; concentré 20 fois; 50ml
- 1 x solution substrat (TMB); 15ml
- 1 x solution d'arrêt, 10ml
- feuillets de données: gamme de mesure des sérums de contrôle du test
- information produit
- système de pipetage

Réalisation du test:

Nous recommandons l'utilisation de pipettes multicanaux et d'un bac de lavage automatique pour obtenir des durées d'incubation très synchronisées et un haut niveau de performance pour tous les étalons et échantillons utilisés dans le test.

Étapes Préliminaires:

- porter tous les réactifs à température ambiante
- toujours ouvrir l'emballage après avoir atteint la température ambiante
- diluer le tampon de dilution de l'échantillon (couleur **ocre**) (1 part) avec de l'eau distillée (4 parts). Volume total = 100ml
- diluer le tampon de lavage (1part) avec de l'eau distillée (19 parts). Volume total= 1000 ml
- les sérums patients doivent être dilués au 1:101 avant utilisation. Distribuer 10µl de l'échantillon dans 1 ml de tampon d'échantillon dilué (couleur **ocre**).
- les étalons sont prêts à l'emploi
- les sérums de contrôle positif et négatif sont prêts à l'emploi
- la solution de conjugué (couleur **verte**) est prête à l'emploi
- le chromogène (TMB) doit être utilisé sans aucune influence de la lumière. Après utilisation, il doit être conservé à l'abri de la lumière
- les bandelettes non utilisées doivent être rapidement replacées dans l'emballage avec le dessiccateur, refermer et conserver entre 2 et 8°C.

Manipuler la solution d'arrêt avec prudence! Acide Sulfurique!

Mode Opérateur:

- **100µl d'échantillons de patients dilués, d'étalons non dilués et de sérums de contrôle non dilués** sont pipetés dans les puits. Il est recommandé de réaliser plusieurs déterminations et "blancos" (tampon de dilution de l'échantillon couleur **ocre**, prédilué)
- **incuber 30 minutes** à température ambiante
- rincer la plaque de micro-titration trois fois en utilisant au moins 300µl de tampon de lavage pour chaque puit et chaque étape de lavage. Enlever les traces du tampon restant hors des puits en passant soigneusement un papier absorbant après le dernier lavage. Attention: un lavage et une aspiration incomplets des puits peuvent entraîner une diminution de précision.
- ajouter **100µl de conjugué** (solution couleur **verte**) à chaque puit
- **incuber 30 minutes** à température ambiante
- éliminer des puits le conjugué non lié et laver la plaque comme décrit ci-dessus.
- ajouter **100µl de chromogène** (TMB) à chaque puit
- **incuber 30 minutes** à l'abri complet de la lumière et à température ambiante
- ajouter **50µl de solution d'arrêt** dans le même ordre que le chromogène
- déterminer l'extinction optique à **450nm** dans les 30 min après l'arrêt de la réaction

Evaluation du Test:

Les absorbances déterminées pour les points d'étalonnage sont indiquées par rapport aux concentrations des solutions standard de façon semi-logarithmique (3.125 SM U/ml; 12.5 SM U/ml; 50 SM U/ml; 100 SM U/ml). Une courbe d'étalonnage est ensuite obtenue en dessinant la ligne d'ajustement (quatre paramètres) passant sur les points. Lire la concentration de chaque composé à analyser directement à partir de la courbe d'étalonnage.

Les valeurs de β 2-Glycoprotéine 1-IgM inférieures à 10 SM U/ml sont considérées négatives.

Cut-off = 10 SM U/ml

L'interprétation des résultats dépend de l'application clinique spécifique du test: chaque laboratoire devrait établir ces propres gammes de signification clinique pour la population prise en considération. Un échantillon avec des niveaux d'anticorps douteux devrait être testé à nouveau; s'il reste douteux, le résultat devrait être reporté comme douteux et/ou un échantillon supplémentaire devrait être testé selon l'avis du médecin.

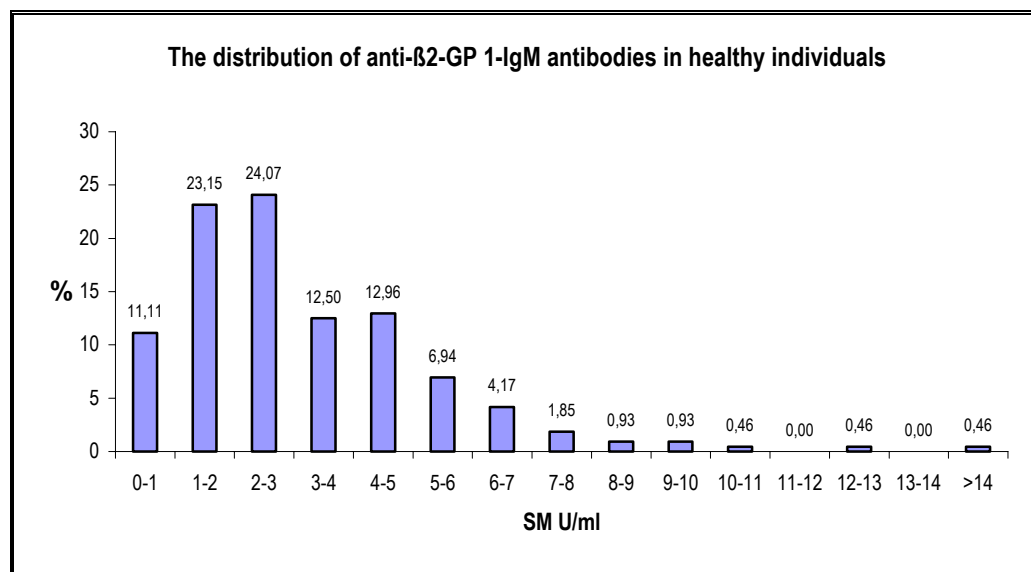
Le test peut être évalué si le résultat du contrôle positif est compris dans une gamme indiquée sur le feuillet de données et si en même temps, le contrôle négatif se trouve aussi en dessous de la valeur "Cut-Off".

Précautions:

Pour diagnostic in vitro uniquement! Les standards et les sérums de contrôle sont d'origine humaine. Les sérums ont été testés et sont négatifs pour l'HBsAg, l'Hépatite C et le VIH. Toutefois, tous les réactifs doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent donc être manipulés avec les précautions nécessaires. Les règles de manipulation des sérums humains doivent être respectées.

Avertissement: Certains réactifs contiennent de l'Azide de Sodium. L'Azide de Sodium peut former des Azotures Métalliques hautement explosifs avec le plomb et le cuivre présents notamment dans les canalisations. Afin d'éviter la formation et l'accumulation de tels azotures dans les canalisations, rincer l'évier à grande eau lors de l'élimination des restes de réactifs. Certains réactifs contiennent de petites quantités de Thimérosol (<0.1% p/v). Le substrat contient du 3,3', 5,5' de Tétraméthylbenzidine. La solution d'arrêt contient 2,6% d'Acide Sulfurique. Manipuler donc tous ces composants comme des agents potentiellement dangereux.

1. Distribution of anti- β 2-Glycoprotein 1-IgM antibodies in healthy individuals



Specificity %	number	SM U/ml	Recommended Cut-off
$\geq 95\%$	209	<8	
$\geq 99\%$	214	<12	10 SM U/ml

2. Precision

	Repeatability (n=23)			Reproducibility (n=69)			
	1	2	3	Mean	1	2	3
Mean	78.63	48.75	6.25	Mean	85.32	50.51	6.89
S.D.	4.89	2.45	0.36	S.D.	8.14	3.31	0.56
C.V.	6.22	5.02	5.74	C.V.	9.55	6.55	8.16

3. Dilution

	Dilution			Dilution of Sapporo EY2C9		
	Expected SM U/ml	Measured SM U/ml	Recovery %		OD	EY2C9 μ g/ml
1 : 1		89.3		1 : 400	1.77	0.039
1 : 2	44.7	41.4	92.6	1 : 800	0.95	0.0195
1 : 4	22.3	23.5	105.4	1 : 1600	0.47	0.00975
1 : 8	11.2	12.9	115.2	1 : 3200	0.26	0.004875

Explanation of symbols / Significato dei simboli / Explication des symboles / Bedeutung der Symbole/ Explicación de los símbolos / Explicação dos símbolos / Επεξήγηση των συμβόλων



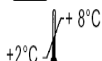
For XX tests / Per XX dosaggi / Pour XX dosages / Für XX Bestimmungen / Para XX ensayos / Para XX testes / Περιεχόμενο επαρκές για XX εξετάσεις.



Consult instructions for use / Leggere le istruzioni per l'uso / Lire la notice d'utilisation / Gebrauchsanweisung beachten / Consulte las instrucciones de uso / Consulte as instruções de utilização / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης.



Use by / Utilizzare entro / Utiliser jusque / Verwendbar bis / Use antes de / Utilizar em / Ημερομηνία λήξης.



Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Temperaturgrenzen / Límites de temperatura / Límites de temperatura / Περιορισμοί θερμοκρασίας.



Manufacturer / Fabbricante / Fabricant / Hersteller / Fabricante / Κατασκευαστής.



In vitro diagnostic / Diagnostico in vitro / Diagnostic in vitro / In-vitro-Diagnostikum / Diagnóstico in vitro / In Vitro .ιαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν.



Batch code / Codice del lotto / Code du lot / Chargenbezeichnung / Código de lote / Código do lote / Αριθμός Παρτίδας.



Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Bestellnummer / Número de catálogo / Αριθμός καταλόγου.



Wash buffer / Tampone di lavaggio / Tampon de lavage / Waschpuffer / Tampon de lavado / Tampão de lavagem / Ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης.



Calibrator / Calibratore / Etalon / Kalibrator / Calibrador / Μέσο βαθμονόμησης.



Enzyme tracer / Tracciante enzimatico / Traceur enzymatique / Enzymkonjugat / Trazador enzimático / Conjugado enzimático / Ενζυματικός ιχνηθέτης.



Kit contents / Contenido del kit / Contenu de la trousse / Inhalt des Kits / Contenido del kit / Conteúdo do dispositivo / Περιεχόμενα συσκευασίας.



Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Negatives Kontrollserum / Control negativo / Controllo negativo / Αρνητικό πρότυπο ελέγχου.



Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Positives Kontrollserum / Control positivo / Controllo positivo / Θετικό πρότυπο ελέγχου.



Specimen diluent / Diluente campioni / Diluant pour échantillons / Probenpuffer / Diluyente de muestras / Diluente das amostras / .ιαλύτης δειγμάτων.



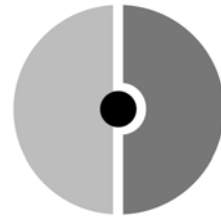
Stop solution / Soluzione di stop / Solution d'arrêt / Stopplösung / Solución de paro / Solução de paragem / Ανασχετικό διάλυμα.



Coated strips (solid phase) / Strip sensibilizzate (fase solida) / Barrettes revêtues (phase solide) / Beschichtete Streifen (feste Phase) / Tiras recubiertas (fase sólida) / Tiras sensibilizadas (fase sólida) / Επικαλυμμένες λωρίδες [strip] (στερεά φάση).



Chromogen (Tetramethylbenzidine) & Substrate / Cromogeno (Tetrametilbenzidina) & Substrato / Cromogène (Tétraméthylbenzidine) & Substrat / Chromogen (Tetramethylbenzidin) & Substrat / Cromógeno (Tetrametilbencidina) & Sustrato / Cromogénio (Tetrametilbenzidina) & Substrato/ Χρωμογόνο (Τετραμεθυλβενζιδίνη) & Υπόστρωμα.



Dr•Fenning
BioMed GmbH

fr-elisa β 2-Glycoprotein 1-IgM, Sept 2009

CE Dr. Fenning BioMed GmbH
Ottenstr.6a, 79199 Kirchzarten/Germany
Tel. +49 7661 9331-0
info@fenningbiomed.de/com