

NOVA Lite[®] ICA (Primate Pancreas) Slides

Uniquement pour “Diagnostics *In-Vitro*”

Exclusivement destiné à l'exportation. Ne pas vendre aux États-Unis.

Complexité de CLIA: Haut



REF 508315, 508315.10, 508310

Application

Les lames de pancréas de singe sont destinées au dépistage des anticorps anti-cellules des îlots pancréatiques dans le sérum humain en immunofluorescence indirecte. Elles apportent une aide dans le diagnostic des diabètes insulino-dépendants.

Informations concernant le test

Les autoanticorps anti-cellules des îlots pancréatiques sont présents dans le sérum d'une 80% des patients ayant un diabète insulino-dépendant au moment du diagnostic. Ce pourcentage diminue avec le traitement. L'immuno-fluorescence indirecte est la méthode de choix pour détecter les anticorps anti-cellules des îlots pancréatiques en utilisant comme substrat du pancréas de singe. Le tissu provient de la partie supérieure du pancréas qui contient une majorité d'îlots.

Principe du test

Ces coupes font appel à une technique d'immunofluorescence indirecte. Les sérums de patients et les contrôles appropriés sont incubés sur les coupes de tissu. Les anticorps non spécifiques sont éliminés par lavage. Un conjugué approprié marqué à la fluorescéine est appliqué. Le conjugué non lié est éliminé par lavage et la lecture des lames s'effectue à l'aide d'un microscope à fluorescence. La positivité des échantillons se traduit par un marquage fluorescent vert pomme de certaines régions de la coupe de tissu sur lesquelles sont accrochés les autoanticorps.¹

Contenu du coffret

Des lames de 4 puits ou 8 recouvertes de coupes de pancréas de singe, emballées individuellement dans un sachet aluminium contenant un dessiccateur.

Avertissements/Précautions

Tous les échantillons humains doivent être considérés comme potentiellement infectieux et il est nécessaire de les manipuler avec précaution. Seul un personnel entraîné à manipuler de tels échantillons peut utiliser ces réactifs.

Conditions de conservation

Les lames non ouvertes doivent être stockées à 2-8°C et peuvent être utilisées jusqu'à la date de péremption. NE PAS CONGELER. Lorsque les lames sont sorties de leur emballage, elles doivent être utilisées immédiatement.

Echantillons

Utiliser des échantillons de sérums. Laisser le sang coaguler à température ambiante, puis séparer le sérum du caillot dès que possible pour éviter l'hémolyse. Les sérums peuvent être conservés à 2-8°C pendant 7 jours avant les tests³ ou aliquotés et congelés à -20°C minimum pour une conservation plus longue. NE PAS congeler et décongeler les échantillons plus d'une fois. Éviter d'utiliser des sérums lipidiques, hémolysés ou contaminés par des bactéries. En effet, de tels sérums pourraient donner des aspects flous ou une diminution du titre.

Procédure

Matériel fourni

1. ICA (Primate Pancreas) Slide– 1 x 4- puits or
2. ICA (Primate Pancreas) Slide– 10 x 4- puits or
3. ICA (Primate Pancreas) Slide– 1 x 8- puits

Autre matériel nécessaire non fourni

1. Tampon PBS comme diluant des échantillons et pour les lavages
2. Récipient pour le tampon PBS
3. Micropipettes et cônes pour le dépôt des échantillons
4. Chambre humide pour les étapes d'incubation
5. Microscope à fluorescence avec un filtre d'excitation à 495nm et un filtre d'émission à 515nm
6. Pissette pour les lavages au PBS

Les réactifs suivants sont également requis et sont disponibles dans les laboratoires Inova Diagnostics : PBS Concentrate (40x) (508002), IFA System Negative Control (508186), Pancreatic Islet Cell Pos. Ctl. (504005), FITC IgG Conjugate Primate Absorbed (508128), 1% Evans Blue (504049) et Mounting Medium (508001, 508005, 508006).

Procédure

Contrôle de qualité

Les contrôles positifs et négatifs doivent être utilisés à chaque série de tests.

1. Milieu de montage : Sortir le milieu de montage du réfrigérateur pour qu'il atteigne la température ambiante (18-28°C) avant d'être utilisé.
2. Diluer les échantillons
Dépistage : Diluer les échantillons au 1/5 en ajoutant 40µL de sérum à 160µL de PBS.
Titration : Faire des dilutions en cascade en PBS pour les sérums positifs (1/5, 1/10, 1/20 et 1/40 etc.).
Par ex: prendre 100µL de la dilution au 1/5 et mélanger à 100µL de PBS pour obtenir la dilution au 1/10 (répéter pour obtenir les dilutions suivantes).
3. Lames. Laisser les lames atteindre la température ambiante (18-28°C) avant de les retirer de l'emballage. Etiqueter les lames, les placer dans une chambre humide et déposer 50-100µL de contrôle positif, négatif et de sérum de patient correctement dilué.
4. Incubation des lames. Incuber les lames pendant 30 minutes dans une chambre humide à température ambiante (18-28°C).
5. Lavage en PBS. Sortir les lames de la chambre humide et les rincer doucement à l'aide d'une pissette contenant du tampon PBS. Ne pas diriger le jet directement sur les puits. Mettre les lames sur un portoir et les immerger en PBS sous agitation lente pendant 5-10 minutes.
6. Addition du conjugué fluorescent. Eliminer l'excès de PBS et sécher le pourtour des puits à l'aide des buvards. Remettre les lames en chambre humide et couvrir immédiatement chaque puits avec une goutte de conjugué. NE PAS LAISSER LES PUIITS A L'AIR PENDANT PLUS DE 15 SECONDES. LE DESSECHEMENT DU SUBSTRAT AFFECTE SERIEUSEMENT LES RESULTATS. L'utilisation du conjugué adsorbé sur singe (508128) permet d'obtenir de meilleurs résultats.
7. Incubation des lames. Incuber les lames pendant 30 minutes en chambre humide à température ambiante (18-28°C) dans l'obscurité.
8. Lavage en PBS. Laver à nouveau comme au paragraphe 5. Colorant optionnel: ajouter 2 à 3 gouttes de bleu d'Evans 1% pour 100mL de PBS avant d'immerger les lames.
9. Montage des lames. Retirer les lames une à une du tampon PBS. Sécher rapidement le pourtour des puits et ajouter une goutte de milieu de montage sur chaque puits. Déposer la lamelle en évitant la formation de bulles d'air. Ne pas essayer d'éliminer les bulles d'air éventuellement apparues.
10. Lecture des lames. La lecture se fait à l'aide d'un microscope à fluorescence le plus rapidement possible. Cependant, il est possible de les stocker 3 jours à 2-8°C à l'obscurité sans affecter l'intensité de la fluorescence.

Résultats

Contrôle de qualité

Le contrôle positif doit donner un marquage vert pomme fluorescent des îlots de Langerhans du pancréas. Le contrôle négatif doit montrer un marquage vert pâle sur tout le tissu sans aucune fluorescence distincte.

Si les contrôles n'apparaissent pas comme décrits ci-dessus, le test est invalide et doit être répété.

Interprétation des résultats

Pour visualiser une photographie couleur de cet aspect se reporter à la référence 2. Les résultats sont rendus positifs ou négatifs.

Note : Chaque laboratoire doit établir son seuil de positivité en fonction de la clinique.

Limites du test











1. La qualité des filtres, des optiques et de la source lumineuse peut influencer la sensibilité du test. Les performances du microscope sont dépendantes de la maintenance et plus particulièrement du centrage de la lampe à vapeur de mercure et de son changement après la période recommandée.
2. Les cellules de l'acinus du pancréas de singe contiennent des substances liées aux groupes sanguins qui peuvent être marquées par des anticorps aux groupes sanguins anti-A et anti-B.
3. La présence d'anticorps anti-nucléaires ou anti-mitochondrie peut cacher ou être confondu avec des anticorps anti-cellules des îlots. Pour cette raison, tous les sérums produisant un marquage sur les coupes de pancréas doivent être testés sur des coupes de foie, rein et estomac.
4. Ces lames n'ont pas été testées avec des réactifs d'autres fournisseurs mais ceci ne doit pas être nécessairement exclu.
5. Ce test ne constitue pas un diagnostic en soi. D'autres facteurs comme l'histoire clinique du patient et d'autres résultats sérologiques ou de biopsie doivent être pris en considération.

Résumé de la procédure

1. Ramener le milieu de montage à température ambiante.
2. Diluer le PBS dans de l'eau distillée ou déionisée.
3. Diluer les sérums de patients au 1/5 dans le tampon PBS.
4. Ramener les lames à température ambiante (18-28°C).
5. Déposer 50-100µL des contrôles positifs et négatifs et des sérums dilués dans les puits appropriés.
6. Incuber en chambre humide 30 minutes.
7. Laver 5 à 10 minutes en PBS.
8. Sécher le pourtour des puits et couvrir immédiatement chaque puits avec une goutte de conjugué.
9. Incuber comme à l'étape 6.
10. Laver comme à l'étape 7.
11. Monter les lames.
12. Visualiser les lames sous un microscope à fluorescence.

NOVA Lite, Inova et Inova Diagnostics sont des marques d'Inova Diagnostics, Inc. © 2019 Inova Diagnostics, Inc. Tous droits réservés.

Symboles utilizes

	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Conformité aux normes européennes
	Représentant européen agréé
	Limite de température
	Code du lot
	Numéro de catalogue ou référence
	Fabricant
	Date de péremption
	Contenu suffisant pour
	Consulter les instructions d'utilisation.

Références

1. Weller T.H., Coons A.H. (1954). Fluorescent antibody studies with agent of Varicella and Herpes Zoster propagated in vitro. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **86**: 789-794.
2. Bradwell A.R. *et al* (2008). Atlas of Tissue Autoantibodies (Third Edition). Publ. The Binding Site Ltd., Birmingham, UK
3. Protein Reference Handbook of Autoimmunity (3rd Edition) 2004. Ed. A Milford Ward, GD Wild. Publ. PRU Publications, Sheffield. 14.

Fabricant:

Inova Diagnostics, Inc.
9900 Old Grove Road
San Diego, CA 92131
United States of America

Technical Service (Outside the U.S.) : 1 858-805-7950
support@inovadx.com

Australian Sponsor:

Werfen Australia Pty Ltd
59-61 Dickson Avenue
Artarmon NSW 2064 Australia
Tel. +61 2 9098 0200 / 1300 369 132
<http://au.werfen.com/>

Représentant Autorisé:

Medical Technology Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80
66386 St. Ingbert, Germany
Tel.: +49-6894-581020
Fax.: +49-6894-581021
www.mt-procons.com

628315FR

Mars 2019
Révision 3

