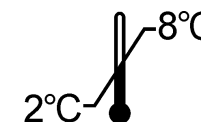
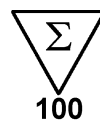















ANTI-INSULIN ANTIBODIES



<p>Trousse pour le dosage radioimmunologique des anticorps anti-insuline libres et totaux dans le sérum humain</p> <p>La trousse contient :</p> <table border="0"> <tr><td>Traceur ≤ 52 kBq</td><td>2 x 5 mL</td></tr> <tr><td>Solution précipitante</td><td>1 x 100 mL</td></tr> <tr><td>Réactif d'extraction</td><td>1 x 10 mL</td></tr> <tr><td>Tampon de neutralisation</td><td>1 x 10 mL</td></tr> <tr><td>Contrôle négatif (C1)</td><td>1 x qsp 1 mL</td></tr> <tr><td>Contrôle positif (C2)</td><td>1 x qsp 1 mL</td></tr> <tr><td>Mode d'emploi</td><td>1</td></tr> </table> <p>Attention : Certains réactifs contiennent de l'azoture de sodium</p>	Traceur ≤ 52 kBq	2 x 5 mL	Solution précipitante	1 x 100 mL	Réactif d'extraction	1 x 10 mL	Tampon de neutralisation	1 x 10 mL	Contrôle négatif (C1)	1 x qsp 1 mL	Contrôle positif (C2)	1 x qsp 1 mL	Mode d'emploi	1	<p>Kit for radioimmunoassay for determination of free and total anti-insulin antibodies in human serum</p> <p>Kit content :</p> <table border="0"> <tr><td>Tracer ≤ 52 kBq</td><td>2 x 5 mL</td></tr> <tr><td>Precipitating solution</td><td>1 x 100 mL</td></tr> <tr><td>Extraction reagent</td><td>1 x 10 mL</td></tr> <tr><td>Neutralization buffer</td><td>1 x 10 mL</td></tr> <tr><td>Negative control</td><td>1 x qs 1 mL</td></tr> <tr><td>Positive control</td><td>1 x qs 1 mL</td></tr> <tr><td>Instruction for use</td><td>1</td></tr> </table> <p>Warning : Some reagents contain sodium azide</p>	Tracer ≤ 52 kBq	2 x 5 mL	Precipitating solution	1 x 100 mL	Extraction reagent	1 x 10 mL	Neutralization buffer	1 x 10 mL	Negative control	1 x qs 1 mL	Positive control	1 x qs 1 mL	Instruction for use	1	<p>Kit zur radioimmunologischen Bestimmung von freien und totalen Anti-Insulin Antikörpern in Humanserum</p> <p>Inhalt des Kits :</p> <table border="0"> <tr><td>Tracer ≤ 52 kBq</td><td>2 x 5 mL</td></tr> <tr><td>Präzipitationslösung</td><td>1 x 100 mL</td></tr> <tr><td>Extraktionsreagenz</td><td>1 x 10 mL</td></tr> <tr><td>Neutralisationspuffer</td><td>1 x 10 mL</td></tr> <tr><td>Negativkontrolle</td><td>1 x qs 1 mL</td></tr> <tr><td>Positivkontrolle</td><td>1 x qs 1 mL</td></tr> <tr><td>Gebrauchsinformation</td><td>1</td></tr> </table> <p>Achtung : Einige Reagenzien enthalten Natriumazid</p>	Tracer ≤ 52 kBq	2 x 5 mL	Präzipitationslösung	1 x 100 mL	Extraktionsreagenz	1 x 10 mL	Neutralisationspuffer	1 x 10 mL	Negativkontrolle	1 x qs 1 mL	Positivkontrolle	1 x qs 1 mL	Gebrauchsinformation	1
Traceur ≤ 52 kBq	2 x 5 mL																																											
Solution précipitante	1 x 100 mL																																											
Réactif d'extraction	1 x 10 mL																																											
Tampon de neutralisation	1 x 10 mL																																											
Contrôle négatif (C1)	1 x qsp 1 mL																																											
Contrôle positif (C2)	1 x qsp 1 mL																																											
Mode d'emploi	1																																											
Tracer ≤ 52 kBq	2 x 5 mL																																											
Precipitating solution	1 x 100 mL																																											
Extraction reagent	1 x 10 mL																																											
Neutralization buffer	1 x 10 mL																																											
Negative control	1 x qs 1 mL																																											
Positive control	1 x qs 1 mL																																											
Instruction for use	1																																											
Tracer ≤ 52 kBq	2 x 5 mL																																											
Präzipitationslösung	1 x 100 mL																																											
Extraktionsreagenz	1 x 10 mL																																											
Neutralisationspuffer	1 x 10 mL																																											
Negativkontrolle	1 x qs 1 mL																																											
Positivkontrolle	1 x qs 1 mL																																											
Gebrauchsinformation	1																																											
<p>Kit per il dosaggio radioimmunologico degli anticorpi anti-insulina liberi e totali nel siero umano</p> <p>Contenuto del kit :</p> <table border="0"> <tr><td>Tracciante ≤ 52 kBq</td><td>2 x 5 mL</td></tr> <tr><td>Reagente immunoprecipitante</td><td>1 x 100 mL</td></tr> <tr><td>Reagente di estrazione</td><td>1 x 10 mL</td></tr> <tr><td>Tampone di neutralizzazione</td><td>1 x 10 mL</td></tr> <tr><td>Controllo negativo (C1)</td><td>1x q.b a 1 mL</td></tr> <tr><td>Controllo positivo (C2)</td><td>1x q.b a 1 mL</td></tr> <tr><td>Istruzioni per l'uso</td><td>1</td></tr> </table> <p>Attenzione : Alcuni reagenti contengono sodio azide</p>	Tracciante ≤ 52 kBq	2 x 5 mL	Reagente immunoprecipitante	1 x 100 mL	Reagente di estrazione	1 x 10 mL	Tampone di neutralizzazione	1 x 10 mL	Controllo negativo (C1)	1x q.b a 1 mL	Controllo positivo (C2)	1x q.b a 1 mL	Istruzioni per l'uso	1	<p>Equipo radioinmunológica para la determinación de los anticuerpos anti-insulina libres y totales en suero humano</p> <p>Contenido del equipo :</p> <table border="0"> <tr><td>Trazador ≤ 52 kBq</td><td>2 x 5 mL</td></tr> <tr><td>Solución precipitante</td><td>1 x 100 mL</td></tr> <tr><td>Reactivo de extracción</td><td>1 x 10 mL</td></tr> <tr><td>Tampón de neutralización</td><td>1 x 10 mL</td></tr> <tr><td>Control negativo (C1)</td><td>1 x csp 1 mL</td></tr> <tr><td>Control positivo (C2)</td><td>1 x csp 1 mL</td></tr> <tr><td>Instrucciones de uso</td><td>1</td></tr> </table> <p>Precauciones : Algunos reactivos contienen azida sódica</p>	Trazador ≤ 52 kBq	2 x 5 mL	Solución precipitante	1 x 100 mL	Reactivo de extracción	1 x 10 mL	Tampón de neutralización	1 x 10 mL	Control negativo (C1)	1 x csp 1 mL	Control positivo (C2)	1 x csp 1 mL	Instrucciones de uso	1	<p>Δοκιμασία για τον ραδιοανοσολογικό προσδιορισμό των ελεύθερων και συνολικών αντισωμάτων έναντι της ινσουλίνης στον ανθρώπινο ορό.</p> <p>Περιεχόμενα της τυποποιημένης συσκευασίας:</p> <table border="0"> <tr><td>Ιχνηθέτης ≤ 52 kBq</td><td>2 x 5 mL</td></tr> <tr><td>Διάλυμα κατακρήμνισης</td><td>1 x 100 mL</td></tr> <tr><td>Αντιδραστήριο εκχύλισης</td><td>1 x 10 mL</td></tr> <tr><td>Ρυθμιστικό διάλυμα εξουδετέρωσης</td><td>1 x 10 mL</td></tr> <tr><td>Αρνητικός μάρτυρας (C1)</td><td>1 x sq 1 mL</td></tr> <tr><td>Θετικός μάρτυρας (C2)</td><td>1 x sq 1 mL</td></tr> <tr><td>Οδηγίες χρήσης</td><td>1</td></tr> </table> <p>Προσοχή: Ορισμένα αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο του νατρίου.</p>	Ιχνηθέτης ≤ 52 kBq	2 x 5 mL	Διάλυμα κατακρήμνισης	1 x 100 mL	Αντιδραστήριο εκχύλισης	1 x 10 mL	Ρυθμιστικό διάλυμα εξουδετέρωσης	1 x 10 mL	Αρνητικός μάρτυρας (C1)	1 x sq 1 mL	Θετικός μάρτυρας (C2)	1 x sq 1 mL	Οδηγίες χρήσης	1
Tracciante ≤ 52 kBq	2 x 5 mL																																											
Reagente immunoprecipitante	1 x 100 mL																																											
Reagente di estrazione	1 x 10 mL																																											
Tampone di neutralizzazione	1 x 10 mL																																											
Controllo negativo (C1)	1x q.b a 1 mL																																											
Controllo positivo (C2)	1x q.b a 1 mL																																											
Istruzioni per l'uso	1																																											
Trazador ≤ 52 kBq	2 x 5 mL																																											
Solución precipitante	1 x 100 mL																																											
Reactivo de extracción	1 x 10 mL																																											
Tampón de neutralización	1 x 10 mL																																											
Control negativo (C1)	1 x csp 1 mL																																											
Control positivo (C2)	1 x csp 1 mL																																											
Instrucciones de uso	1																																											
Ιχνηθέτης ≤ 52 kBq	2 x 5 mL																																											
Διάλυμα κατακρήμνισης	1 x 100 mL																																											
Αντιδραστήριο εκχύλισης	1 x 10 mL																																											
Ρυθμιστικό διάλυμα εξουδετέρωσης	1 x 10 mL																																											
Αρνητικός μάρτυρας (C1)	1 x sq 1 mL																																											
Θετικός μάρτυρας (C2)	1 x sq 1 mL																																											
Οδηγίες χρήσης	1																																											

	FRA	ENG	DEU	ITA	SPA	ELL	CES	TUR	SRB
	Explication des symboles	Explanation of symbols	Erläuterung der Symbole	Spiegazione dei simboli	Significado de los símbolos	Επεξήγηση των συμβόλων	Vysvětlení symbolů	Sembollerin açıklaması	Objašnjenje simbola
	Conforme aux normes européennes	European conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conformità europea	Conformidad europea	Σύμφωνο προς τα ευρωπαϊκά πρότυπα	Evropská shody	Avrupa'ya uyum	Evropska usaglašenost
	T° limite de stockage	Storage temperature limitation	Grenzwerte der Lagertemperatur	Limiti per la temperatura di conservazione	Limites de temperatura de almacenamiento	Όριο θερμοκρασίας αποθήκευσης	Mezní teplota skladování	Depolama sıcaklığı sınırlaması	Ograničenje temperature za čuvanje
	N° de lot	Batch code	Chargencode	codice lotto	Código de lote	Αριθμός παρτίδας	Č. šarže	Parti kodu	Šifra serije
	Utiliser jusqu'au	Use by	Verwendbar bis	utilizzare entro	Consumir antes de	Ημερομηνία λήξης	Použitelné do	Son kullanım tarihi	Upotrebiti do
	Consulter la notice d'utilisation	Consult operating instructions	Im Handbuch nachschlagen	consultare le istruzioni per l'USO	Consultar las instrucciones de manejo o funcionamiento	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	Přečtěte si návod k použití	İşletim talimatlarına danişin	Pogledajte uputstvo za upotrebu
	Diagnostic In Vitro	In Vitro Diagnostic device	In Vitro-Diagnostische Anwendung	Dispositivo Diagnostico In Vitro	Dispositivo de diagnóstico In Vitro	Διαγνωστική συσκευή In Vitro	Diagnostika in vitro	In Vitro Tanılama cihazı	Uredaj za dijagnostiku <i>in vitro</i>
	Fabriqué par	Manufactured by	Hergestellt von	Prodotto da	Fabricado por	Κατασκευάζεται από την	Vyrobil	Üretici	Proizveo
	Référence	Catalogue number	Katalog Nr.	N. catalogo	Número de catálogo	Αριθμός καταλόγου	Reference	Katalog numarası	Kataloški broj
	Nombre de tubes	Number of determinations	Anzahl der Bestimmungen	Numero di determinazioni	Número de determinaciones	Αριθμός προσδιορισμών	Počet zkumavek	Saptama sayısı	Broj određivanja
	Traceur radioactif	Radioactive tracer	Radioaktiver Tracer	Tracciante radioattivo	Trazador radiactivo	Ραδιενεργός ιχνηθέτης	Tracer	Radyoaktif izleyici	Radioaktivni indikator
RIP	Solution précipitante	Precipitating solution	Präzipitationslösung	Reagente immunoprecipitante	Solución precipitante	Διάλυμα κατακρήμνισης	precipitační roztok	presipitasyon solüsyonu	Precipitirajući rastvor
	Contrôle	Control	Kontrolle	Controllo	Control	Όρος ελέγχου	Kontrola	Kontrol	Kontrola
EXTRACT	Réactif d'extraction	Extraction reagent	Extraktionsreagenz	Reagente di estrazione	Reactivo de extracción	Αντιδραστήριο εκχύλισης	extrakční reagentie	ekstraksiyon reaktifi	Ekstrakcioni reagens
BUF	Tampon de neutralisation	Neutralization buffer	Neutralisationspuffer	Tampone di neutralizzazione	Tampón de neutralización	εξουδετέρωσης	neutralizační pufr	nötralizasyon tamponu	Neutralizacioni puffer

FRA **Modifications par rapport à la version précédente :**
Mise à jour code langue Serbe.

ENG **Changes from the previous version:**
Updated Serbian language code.

DEU **Änderungen gegenüber der Vorgängerversion:**
Serbischer Sprachcode aktualisiert.

ITA **Modifiche rispetto alla versione precedente:**
Aggiornato il codice della lingua serba.

SPA **Cambios desde la versión anterior:**
Código de idioma serbio actualizado.

ELL **Αλλαγές από την προηγούμενη έκδοση:**
Ενημερώθηκε κώδικας σερβικής γλώσσας.

CES **Změny od předchozí verze:**
Aktualizovaný srbský kód jazyka.

TUR **Bir önceki sürüm üzerinde yapılan değişiklikler:**
Sırp dil kodu güncellendi..

SRB **Promene od prethodne verzije:**
Ažurirana šifra srpskog jezika

1. NOM ET DESTINATION

ANTI-INSULIN RIA est une trousse destinée au dosage radioimmunologique des anticorps anti-insuline libres et totaux dans le sérum humain.

La trousse est destinée à un usage professionnel.

2. INTRODUCTION

La trousse ANTI-INSULIN RIA permet la mesure :

- des **anticorps anti-insuline induits** lors d'un traitement par l'insuline humaine ou porcine.
- des **auto-anticorps anti-insuline**, présents au cours du prédiabète, avant tout traitement par l'insuline.

3. PRINCIPE

Le principe de détection des anticorps anti-insuline (AAI) repose sur la mise en évidence d'une liaison spécifique avec de l'insuline marquée à l'iode 125. Deux dosages peuvent être réalisés avec la trousse :

1) Le dosage des anticorps anti-insuline libres (AAI libres)

Les AAI libres correspondent aux anticorps non complexés à l'insuline circulante. Ils sont dosés selon une technique de radioimmunoprécipitation en phase liquide :

- le sérum contenant les anticorps anti-insuline est incubé en présence d'insuline marquée à l'iode 125.
- la fraction insuline-¹²⁵I liée aux AAI du sérum est séparée de la fraction insuline-¹²⁵I libre par une précipitation au polyéthylène glycol (PEG).
- après centrifugation, le comptage de la radioactivité des culots (fraction liée) permet de calculer le pourcentage de liaison de l'insuline ¹²⁵I.

2) Le dosage des anticorps anti-insuline totaux (AAI totaux)

Les AAI totaux correspondent aux AAI libres plus ceux complexés à l'insuline sérique. Ils sont dosés suivant le même protocole que les AAI libres après dissociation des immun-complexes en milieu acide, adsorption de l'insuline par du charbon actif, neutralisation puis centrifugation.

Le dosage des AAI libres et/ou AAI totaux s'effectue en 2 heures. Cette durée d'incubation donne une sensibilité suffisante pour la recherche des AAI induits suite à un traitement à l'insuline.

4. REACTIFS

Chaque trousse contient les réactifs suffisants pour 100 tubes. La date de péremption est indiquée sur l'étiquette extérieure.

REACTIFS	SYMBOLES	QUANTITE	CONSERVATION
INSULINE humaine¹²⁵I : prêts à l'emploi. Insuline humaine mono-iodée en A14 et purifiée par chromatographie HPLC, en tampon TRIS additionné de rouge phénol ; contient de l'azoture de sodium (NaN ₃) à 0,1 %. Les 2 flacons contiennent environ 52 kBq (1,4 µCi) d'insuline ¹²⁵ I d'activité spécifique voisine de 300 µCi/µg (11.1 MBq/µg) au jour de marquage.	TRACER	2 flacons de 5 mL	2-8°C jusqu'à la date de péremption.
SOLUTION PRECIPITANTE, bleu : prête à l'emploi. Solution de polyéthylène glycol en tampon phosphate et contenant de l'azoture de sodium à 0,1 % (NaN ₃).	RIP	1 flacon de 100 mL	2-8°C jusqu'à la date de péremption.
REACTIF D'EXTRACTION, noir : prêt à l'emploi. Solution contenant du charbon-dextran en tampon glycine à pH acide, contient de l'azoture de sodium (NaN ₃) à 0,1 %. Ce réactif est à distribuer sous agitation.	EXTRACT	1 flacon de 10 mL	2-8°C jusqu'à la date de péremption.
TAMPON DE NEUTRALISATION, incolore : prêt à l'emploi. Tampon barbital, contient 0,1 % d'azoture de sodium (NaN ₃).	BUF	1 flacon de 10 mL	2-8°C jusqu'à la date de péremption.
CONTROLE NEGATIF (C1) : lyophilisé. Sérum humain normal contenant 0,1 % d'azoture de sodium. Reconstituer avec 1 mL d'eau déminéralisée ou distillée. Homogénéiser doucement après dissolution complète. Eviter la formation de mousse.	CONTROL -	1 flacon qsp 1 mL	2-8°C jusqu'à la date de péremption. Après reconstitution : les contrôles C1 doivent être aliquotés rapidement puis congelés à -20°C. Dans ces conditions, ils sont stables pendant au moins 6 mois.
CONTROLE POSITIF (C2) : lyophilisé. (*) Echantillon d'origine humaine titré en AAI libres et AAI totaux, avec 0,1 % d'azoture de sodium. Reconstituer avec 1 mL d'eau déminéralisée ou distillée. Homogénéiser doucement après dissolution complète. Eviter la formation de mousse.	CONTROL +	1 flacon qsp 1 mL	2-8°C jusqu'à la date de péremption. Après reconstitution : les contrôles C2 doivent être aliquotés rapidement puis congelés à -20°C. Dans ces conditions, ils sont stables pendant au moins 6 mois.

(*) Les valeurs réelles de limite d'acceptation sont indiquées sur l'étiquette du flacon.

5. PRECAUTIONS D'EMPLOI

5.1. Mesures de sécurité

Les matières premières d'origine humaine contenues dans les réactifs de cette trousse ont été testées avec des trousse agrées et trouvées négatives en ce qui concerne les anticorps anti-HIV 1, anti HIV 2, anti-HCV et l'antigène HBs. Cependant aucune méthode d'analyse ne permet à ce jour de garantir totalement qu'une matière première d'origine humaine soit incapable de transmettre l'hépatite, le virus HIV, ou toute autre infection virale. Aussi faut-il considérer toute matière première d'origine humaine, y compris les échantillons à doser, comme potentiellement infectieuse.

Ne pas effectuer les pipetages à la bouche. Ne pas fumer, boire ou manger dans les locaux où l'on manipule les échantillons ou les réactifs. Porter des gants à usage unique pendant la manipulation des réactifs ou des échantillons et se laver soigneusement les mains après. Eviter de provoquer des éclaboussures.

Eliminer les échantillons et décontaminer tout le matériel susceptible d'avoir été contaminé comme s'ils contenaient des agents infectieux. La meilleure méthode de décontamination est l'autoclavage pendant au moins une heure à 121,5°C.

L'azoture de sodium peut réagir avec les canalisations de plomb et de cuivre pour former des azotures de métaux fortement explosifs. Lors de l'évacuation des déchets, les diluer abondamment pour éviter la formation de ces produits.

5.2. Règles de base de radioprotection

Ce produit radioactif ne peut être reçu, acheté, détenu ou utilisé que par des personnes autorisées à cette fin et dans des laboratoires couverts par cette autorisation. Cette solution ne peut en aucun cas être administrée ni à l'homme ni aux animaux.

L'achat, la détention, l'utilisation et l'échange de produits radioactifs sont soumis aux réglementations en vigueur dans le pays de l'utilisateur. L'application des règles de base de radioprotection assure une sécurité adéquate.

Un aperçu en est donné ci-dessous :

Les produits radioactifs seront stockés dans leur conteneur d'origine dans un local approprié.

Un cahier de réception et de stockage de produits radioactifs sera tenu à jour.

La manipulation de produits radioactifs se fera dans un local approprié dont l'accès doit être réglementé (zone contrôlée).

Ne pas manger, ni boire, ni fumer, ni appliquer des cosmétiques en zone contrôlée.

Ne pas pipeter des solutions radioactives avec la bouche. Eviter le contact direct avec tout produit radioactif en utilisant des blouses et des gants de protection. Le matériel de laboratoire et la verrerie qui ont été contaminés doivent être éliminés au fur et à mesure afin d'éviter une contamination croisée de plusieurs isotopes.

Chaque cas de contamination ou perte de substance radioactive devra être résolu selon les procédures établies.

Toute élimination de déchets radioactifs se fera conformément aux réglementations en vigueur.

5.3. Précaution d'utilisation

Ne pas utiliser les composants de la trousse au-delà de la date de péremption. Ne pas mélanger les réactifs provenant de lots différents. Eviter toute contamination microbienne des réactifs et de l'eau utilisée pour les lavages. Respecter le temps d'incubation ainsi que les consignes de lavage.

Le réactif INSULINE humaine^{125I} est sensible aux variations de température (ne pas congeler, ne pas conserver à température ambiante) et doit être conservé impérativement à 2-8°C jusqu'à la date de péremption.

6. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS ET PREPARATION

- Le dosage des anticorps anti-insuline peut être effectué sur le sérum ou sur le plasma obtenu après prélèvement du sang sur EDTA puis centrifugation.
- Les échantillons doivent être stockés à + 2 / 8 °C. Si le dosage n'est pas effectué dans les 24 heures, il est recommandé de conserver les échantillons à -20 °C.
- Il est conseillé d'éviter les congélations - décongélations successives.

7. MODE OPERATOIRE

7.1. Matériel nécessaire

Micropipettes de précision ou matériel similaire à embouts jetables permettant la distribution de 50 µL, 100 µL, 200 µL et 1000 µL. Leur calibration doit être vérifiée régulièrement. Tubes en plastique jetables. Eau distillée ou déminéralisée. Agitateur de type Vortex. Portoirs appropriés. Parafilm®. Centrifugeuse multitubes (3000 g). Scintillateur gamma réglé pour la mesure de l'iode 125.

7.2 Protocole

Tous les réactifs doivent être amenés à température ambiante (18-25°C) au moins 30 minutes avant leur utilisation.

La reconstitution des réactifs et leur distribution dans les tubes s'effectuent également à température ambiante.

Le dosage nécessite les groupes de tubes suivants :

Groupe T pour la détermination de l'activité totale,

Groupe témoin pour le contrôle,

Groupes Sx pour les échantillons à doser.

Le dosage des contrôles (C1 et C2) et des échantillons doit être réalisé simultanément.

- Il est recommandé d'effectuer les essais en double pour les contrôles et les échantillons.
- **L'aspiration du surnageant après précipitation doit être conduite de façon à ce qu'un minimum de surnageant reste dans le tube sans aspiration du précipité.**

A - Dosage des AAI libres

Respecter l'ordre d'addition des réactifs :

- Distribuer 50 µL d'échantillons à doser, d'échantillons de contrôle (C1 et C2) dans les groupes de tubes correspondants.
- Ajouter 100 µL d'insuline ¹²⁵I dans tous les tubes.
- Agiter manuellement le portoir.
- Incuber 2 heures à température ambiante (18-25°C).
- Ajouter 1000 µL de solution précipitante dans tous les tubes (sauf tubes T).
- Agiter **tube à tube** au Vortex® puis incuber 10 minutes à température ambiante (18-25 °C).
- Centrifuger tous les tubes (sauf 1 et 2) à 3000 g et à + 2/8°C, pendant 10 minutes.
- Aspirer soigneusement le surnageant.
- Compter la radioactivité du précipité pendant 1 minute.

AAI LIBRES (SCHEMA OPERATOIRE)

Tubes	Echantillons Contrôles (C1-C2) µL	Insuline ¹²⁵ I µL		Solution précipitante µL	Agiter au Vortex® tube à tube - Incuber 10 mn à + 18-25°C - Centrifuger 10 mn (3000 g) à + 2-8°C - Aspirer le surnageant	
T	-	100	Agiter manuellement le portoir - Incuber 2 heures à 18-25°C	-		Compter
Contrôle négatif Contrôle positif	50	100		1000		
Echantillons	50	100		1000		

B - Dosage des AAI totaux

Le dosage des AAI totaux s'effectue en deux étapes :

1) Extraction au charbon actif

- A 200 µL d'échantillon, ajouter 100 µL de réactif d'extraction sous agitation.
- Agiter manuellement le portoir.
- Incuber 10 minutes à température ambiante (+ 18 / 25 °C).
- Ajouter 100 µL de tampon de neutralisation.
- Agiter manuellement le portoir.
- Centrifuger 10 minutes à 3000 g et à + 2 / 8 °C.

2) Immunoprécipitation

- Prélever 100 µL du surnageant après extraction et ajouter 100 µL d'insuline-¹²⁵I dans tous les tubes (faire le dosage en double pour chaque extrait).
- Agiter manuellement le portoir.
- Incuber 2 heures à température ambiante (+ 18 / 25 °C).
- Ajouter dans tous les tubes (sauf 1 et 2) : 1000 µL de solution précipitante.
- Agiter **tube à tube** au Vortex® puis incuber 10 minutes à température ambiante (+ 18 / 25 °C).
- Centrifuger tous les tubes (sauf 1 et 2) à 3000 g et à + 2 / 8 °C, pendant 10 minutes.
- Aspirer soigneusement le surnageant.
- Compter la radioactivité du précipité pendant 1 minute.

AAI TOTAUX (SCHEMA OPERATOIRE)

1) EXTRACTION						
Tubes	Echantillons Contrôles (C1-C2) μL	Réactif d'extraction μL		Tampon de neutralisation μL		
T	-	-	Agiter manuellement le portoir - Incuber 10 minutes à 18-25°C	-	Agiter manuellement le portoir - Centrifuger 10 mn (3000 g) à + 2-8°C	
Contrôle négatif	200	100		100		
Echantillons	200	100		100		
2) IMMUNOPRECIPITATION						
Tubes	Echantillons surnageant Contrôles (C1-C2) Surnageant μL	Insulin ¹²⁵ I μL		Solution précipitante μL	Agiter au Vortex® tube après tube - Incuber 10 mn à + 18-25°C - Centrifuger 10 mn (3000 g) à + 2-8°C - Aspirer le surnageant	Compter
T	-	100	Agiter manuellement le portoir - Incuber 2 heures à 18-25°C	-		
Contrôle négatif	100	100		1000		
Echantillons	100	100		1000		

8. CONTROLE DE QUALITE

Les bonnes pratiques de laboratoire impliquent que des échantillons de contrôle soient utilisés dans chaque série de dosages pour s'assurer de la qualité des résultats obtenus. Ces échantillons devront être traités de la même façon que les prélèvements à doser et il est recommandé d'en analyser les résultats à l'aide de méthodes statistiques appropriées.

9. RESULTATS

- Effectuer la moyenne des cpm des contrôles (C1 et C2) et des échantillons.
- Calculer la capacité de liaison de chaque contrôle et échantillon en pourcentage de radioactivité totale, soit :

$$B/T (\%) = \frac{\text{radioactivité du tube} \times (\text{cpm})}{\text{radioactivité totale} (\text{cpm})} \times 100$$

Exemple seulement : ces données ne doivent en aucun cas être substituées aux résultats obtenus dans le laboratoire.

. AAI libres

	cpm moyens	B/AT (%)
Activité totale	17827	
Contrôle négatif (C1)	715	4,0
Contrôle positif (C2)	6254	35,1
Echantillon 1	647	3,6
Echantillon 2	6678	37,5
Echantillon 3	9836	55,2

. AAI totaux

	cpm moyens	B/AT (%)
Activité totale	17539	
Contrôle négatif (C1)	657	3,7
Contrôle positif (C2)	8224	46,9
Echantillon 1	634	3,6
Echantillon 2	9060	51,7
Echantillon 3	10616	60,5

10. LIMITATIONS DE LA METHODE

Les échantillons présentant un trouble, une hémolyse, une hyperlipémie ou contenant de la fibrine peuvent donner des résultats inexacts.

11. VALEURS ATTENDUES

Chaque laboratoire doit établir ses propres valeurs normales. Les valeurs données ci-après ne sont qu'indicatives. Un seuil de positivité (S.P.) a été déterminé à partir de 150 sujets présumés normaux de la manière suivante :

$$\text{S.P.} = \text{valeur moyenne} + 3 \sigma = 3,6 + (3 \times 0,6) = 5,5 \% \text{ B/T}$$

On peut donc considérer qu'un pourcentage de liaison supérieur à ce seuil de positivité indique la présence d'anticorps anti-insuline.

12. CARACTERISTIQUES SPECIFIQUES DU DOSAGE

La **précision du test** est fournie par les reproductibilités intra et inter essai.

A - Anticorps anti-insuline libres

1. Reproductibilité intra-essai

3 sérums ont été dosés 10 fois dans un même essai.

	moyenne (% B/T)	écart-type (% B/T)	CV (%)
Sérum 1 négatif	3,9	0,2	5,1
Sérum 2	29,5	0,7	2,4
Sérum 3	54,4	1,1	2,0

2. Reproductibilité inter-essai

3 sérums ont été dosés en double dans 5 séries différentes avec 3 lots de traceur à divers stades de validité et par 3 manipulateurs.

	moyenne (% B/T)	écart-type (% B/T)	CV (%)
Sérum 1 négatif	3,5	0,5	14,3
Sérum 2	36	1,1	3,1
Sérum 3	54	0,7	1,3

B - Anticorps anti-insuline totaux

1 - Reproductibilité intra-essai

3 sérums ont été dosés 10 fois dans un même essai après extraction.

	moyenne (% B/T)	écart-type (% B/T)	CV (%)
Sérum 1 négatif	3,5	0,6	17,1
Sérum 2	29,7	0,5	1,7
Sérum 3	58,5	0,6	1,0

2 - Reproductibilité inter-essai

3 sérums ont été dosés en double dans 5 séries différentes avec 3 lots de traceur à divers stades de validité et par 3 manipulateurs.

	moyenne (% B/T)	écart-type (% B/T)	CV (%)
Sérum 1 négatif	3,3	0,4	12,1
Sérum 2	51,2	1,6	3,1
Sérum 3	58,9	1,8	3,1

13. INTERFERENCES

Aucune interférence à la bilirubine, à l'hémoglobine et aux triglycérides, mesurées jusqu'à des concentrations respectives égales à 250 mg/L, 10 g/L et 20 g/L n'a été observée.

BIBLIOGRAPHY

Bottazzo GF, Genovese F, Bosi E, Dean BM, Christie MR, and Bonifacio E. Novel considerations on the antibody/autoantigen system in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Annals of medicine*. 1991;23:453-61.

Bridel MP, Levy-Marchal C, and Porquet D. Les auto-anticorps anti-insuline : marqueur prédictif de survenue de diabète insulino-dépendant ? *Immunoanal Biol Spéc*. 1991;25:37-41.

Castano L, Ziegler AG, Ziegler R, Schoelson S, and Eisenbarth GS. Characterization of insulin autoantibodies in relatives of patients with type 1 diabetes. *Diabetes* 42. 1993;1202-9.

Freychet P. Mécanisme d'action de l'insuline. *Médecine/Sciences* 4. 1988;70-82.

Green A, Gale EAM, and Patterson CC. Incidence of childhood-onset insulin-dependent diabetes mellitus : the Eurodiab Ace Study. *Lancet* . 1992;339:905-9.

Greenbaum CJ, Wilkin TJ, and Palmer JP. Fifth international serum exchange workshop for insulin autoantibody (IAA) standardization. *Diabetologia*. 1992;35:798-800.

Kuglin B, Kolb H, Greenbaum C, Maclaren NK, Lenmark A, and Palmer JP. The fourth international workshop on the standardization of insulin autoantibody measurement. *Diabetologia*. 1990;33:638-9.

Levy-Marchal C, Bridel MP, Sodoyez-Goffaux F, Koch M, Tichet J, Czernichow P, and Sodoyez JC. Superiority of radiobinding assay over ELISA for detection of IAAs in newly diagnosed type 1 diabetic children. *Diabetes Care*. 1991; 14:61-3.

Muir A, Shatz DA, and Maclaren NK. The pathogenesis, prediction, and prevention of insulin-dependent diabetes mellitus. *Endoc. Metab. Clin. North Am*. 1992;21:199-219.

Nerup J, Mandrup-Poulsen T, Molvig J, Helqvist S, Wogensen L, and Egeberg J. Mechanisms of pancreatic β -cell destruction in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 1988;11:16-23.

Palmer JP, Asplin CM, Clemons P, Lyen K, Tatpati O, Raghu PK, and Paquette TL. Insulin antibodies in insulin-dependent diabetics before insulin treatment. *Science*. 1983;222:1337-9.

Sodoyez-Goffaux F, Koch M, Dozio M, Brandenburg D, and Sodoyez JC. Advantages and pitfalls of radioimmune and enzyme linked immunosorbent assays of insulin antibodies. *Diabetologia*. 1988;34:694-702.

Sodoyez JC, Koch M, Lemaire I, Sodoyez-Goffaux F, Rapaille A, François-Gérard C, and Sondag D. Influence of affinity of antibodies upon their detection by liquid phase radiobinding assay and solid phase enzyme linked immunosorbent assay. Demonstration using monoclonal antibodies raised against rDNA human proinsulin. *Diabetologia*. 1991;34:463-8.

Swenne I. Pancreatic Beta-cell growth and diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1992;35:193-201.

Vandewalle CL, Decraene T, Schuit FC, De Leeuw IH, Pipellers DG, Gorus FK, and the Belgian Diabetes Registry. Insulin autoantibodies and high titre islet cell antibodies are preferentially associated with the HLA DQA1*0301-DQB1*0302 haplotype at clinical onset of type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus before age 10 years, but not at onset between age 10 and 40 years. *Diabetologia*. 1993;36:1155-62.

Vardi P, Brik R, and Barzilai D. Insulin autoantibodies : reflection of disturbed self-identification and their use in the prediction of type 1 diabetes. *Diabetes/Metabolism Reviews*. 1991;7:209-22.

Vardi P, Dib SA, Tuttleman M, Connely JE, Grinbergs M, Radizabath A, and all. Competitive insulin autoantibody assay. Prospective evaluation of subjects at high risk for development of type 1 diabetes mellitus. *Diabetes*. 1987;36: 1286-91.

Yassin N, Seissler J, Glück M, Boehm BO, Heinze E, Pfeiffer EF, and Scherbaum WA. Insulin autoantibodies as determined by competitive radiobinding assay are positively correlated with impaired Beta-cell function-the Ulm Frankfurt population study. *Klin Wochenschr*. 1991;69:736-41