



BIOCLONE

# ELEGANCE KIT ELISA hCG

REF 40 420096

Σ 96

ITALIANO



## GARANZIA

Il fabbricante garantisce per il suo prodotto esclusivamente la sua capacità di misurare l'analita specificato, quando usato conformemente alle istruzioni scritte fornite dal fabbricante stesso. L'uso del kit diagnostico per qualunque altro scopo esula dall'impiego previsto per il prodotto ed avviene a rischio esclusivo dell'utilizzatore. Il fabbricante declina ogni tipo di garanzia implicita di commerciabilità, convenienza d'uso o utilità presunta a qualsiasi altro titolo. Qualsiasi indennizzo dovuto a un mancato funzionamento o errore del kit diagnostico usato conformemente alle istruzioni si limita al valore di sostituzione del kit. La sola responsabilità di Bioclone Australia Pty Limited e dei propri distributori si limita alla sostituzione del prodotto oppure al rimborso della spesa d'acquisto. Bioclone Australia Pty Limited non è responsabile per danni materiali, lesioni personali o perdite di natura economica causati dai suoi prodotti.

Prodotto da Bioclone Australia Pty Limited

(società affiliata a Hitachi Chemical Co., Ltd) ABN 14 002 036 071  
71-73 Railway Parade Marrickville NSW AUSTRALIA 2204

Tel +61 (0) 2 9517 1966 Fax +61 (0) 2 9517 2990 Numero verde 1800 251 138

Email sales@bioclone.com.au Web [www.bioclone.com.au](http://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

## FINALITÀ D'USO

Il kit **ELEGANCE ELISA hCG** è stato sviluppato per la determinazione diagnostica *in vitro* quantitativa o qualitativa della gonadotropina coriale umana (hCG, human chorionic gonadotrophin) presente nel siero o nel plasma.

## PRINCIPIO OPERATIVO DEL KIT ELEGANCE ELISA

L'ELISA è un metodo immunoenzimatico. L'antigene presente nel campione, come in un "sandwich", si lega sia all'anticorpo adesivo sia all'anticorpo biotinilato. I micropozzetti vengono lavati al fine di rimuovere i componenti non legati. Viene aggiunta la Streptavidina-perossidasi (Reagente di amplificazione) che si lega in molti siti dell'anticorpo biotinilato. Dopo il lavaggio, si aggiunge soluzione substrato che reagisce con la perossidasi rimasta legata producendo una quantità di colore direttamente proporzionale alla quantità di antigene del campione. L'antigene presente nel campione può essere determinato quantitativamente dalla curva di calibrazione (oppure confrontato qualitativamente con il Riferimento positivo).

## ELEGANCE REAGENTI FORNITI, STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Composizione della confezione - 96 test. Il kit e tutti i suoi componenti, nuovi o già avviati, devono essere conservati ad una temperatura compresa tra i 2-8°C fino alla data di scadenza riportata sulla confezione.

### hCG: Micropozzetti Rivestiti 96 micropozzetti REF # CGA96

La confezione contiene micropozzetti rivestiti con l'anticorpo anti-hCG. Pronto all'uso.

### hCG: Anticorpo Reattivo

**1 flacone REF # CGB96**  
10 mL di anticorpo anti-hCG biotinilato in una soluzione tampone contenente albumina sierica bovina, siero animale non immune e colorante blu. Contiene sodio azide, (NaN<sub>3</sub>), 0.2% p/v e tiomersale, 0.01% p/v. Pronto all'uso.

### hCG: Reagente di Amplificazione

**1 flacone REF # CGP96**  
10 mL di streptavidina-perossidasi (streptavidina estratta da *S. avidinii*) in una soluzione tampone contenente albumina sierica di origine bovina e colorante violetto. Contiene Bronidox L, 0.2% v/v e tiomersale, 0.02% p/v. Pronto all'uso.

### Soluzione di lavaggio concentrata

**1 flacone REF # EWC96**  
50 mL di soluzione di lavaggio concentrata 15 volte. Contiene tiomersale, 0.09% p/v.

Diluire prima dell'uso.

### Tampone substrato

**1 flacone REF # ESB20**  
20 mL di urea perossido in un tampone citrato-fosfato. Contiene tiomersale, 0.01% p/v.

### Tavolette di substrato

**1 flacone REF # EST4**  
4 x 4 mg, tavolette di ortofenilenediamina (OPD) con ingredienti inattivi.

### hCG: Calibratori

**6 flaconi REF # ECGS1-6**

### hCG: Riferimento Positivo

**1 flacone REF # ECGR**  
2.0 mL nel Calibratore A e 0.5 mL nel Calibratore B-F e Riferimento Positivo ciascuno in siero bovino. Contiene NaN<sub>3</sub>, 0.1% w/v. Liofilizzato.

### PRECAUZIONI E AVVERTENZE PER L'USO

Manipolazione, impiego, conservazione e smaltimento dei campioni e dei componenti del kit devono avvenire in accordo con le linee guida e i regolamenti di sicurezza nazionali o locali.

### Campioni, Calibratori e Riferimento Positivo

Il materiale originario dei calibratori e del Riferimento Positivo è stato testato con un metodo approvato e accreditato contro la presenza di antigeni di superficie per l'epatite B, anticorpi per l'epatite C ed anticorpi contro HIV - 1/2 (AIDS) ed è risultato totalmente non reattivo. Si raccomanda, comunque, di maneggiare tutti i campioni con le precauzioni d'uso relative ai prodotti potenzialmente infettivi.

### Conservanti

Il kit contiene sodio azide, tiomersale e Bronidox L come conservanti. Come reagenti contiene conservanti potenzialmente tossici, si raccomanda di maneggiare i componenti del kit con attenzione, evitando l'ingestione o il contatto con la cute. L'azide sodica può reagire con le tubature in piombo o in rame dei lavelli formando azoturi metallici potenzialmente esplosivi.

### Substrato

Evitare qualsiasi contatto con la cute.

### RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

Non è richiesta alcuna preparazione del paziente. Si possono utilizzare campioni sia di siero che di plasma, raccolti in modo appropriato per le analisi di laboratorio. È preferibile l'utilizzo di siero ma anche l'impiego di anticoagulanti quali eparina o EDTA non pregiudica l'accuratezza dell'analisi. Evitare campioni fortemente emolizzati, lipemici o torbidi. I campioni possono essere conservati a 2-8°C fino a 48 ore. Per una conservazione più prolungata è consigliabile congelare i campioni a -20°C, evitando congelamenti e scongelamenti ripetuti. Nei campioni scongelati si deve verificare la presenza di materia flocculenta e vanno mescolati per inversione subito prima dell'uso. Campioni torbidi o contenenti particolati vanno centrifugati prima

dell'uso.

### MATERIALI O ATTREZZATURE NECESSARI MA NON COMPRESI NEL KIT

- \* Acqua distillata o deionizzata
- \* 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- \* Pipette di precisione
- \* Pipetta di ripetizione
- \* Cilindro di misurazione da 1L
- \* Tessuto assorbente (privo di garza)
- \* Cronometro
- \* Miscelatore Vortex
- \* Agitatore di piastre Microtitre
- \* Lavapiastre automatico Microtitre
- \* Sistema di lettura Microplate

### NOTE PROCEDURALI

Portare tutti i reagenti e i campioni a temperatura ambiente (20-25°C) e mescolare delicatamente per capovolgimento. Si raccomanda di operare in duplicato. La contaminazione dei reattivi può comportare una riduzione delle performance del metodo. La curva di calibrazione dev'essere tracciata per ciascun test. I campioni con concentrazioni presumibilmente superiori al valore del calibratore più alto devono essere diluiti prima dell'analisi con il calibratore zero. Tutti i passi della metodica devono essere eseguiti in successione evitando interruzioni, ma i micropozzetti non possono essere riempiti con il Reagente di Amplificazione o con la soluzione di substrato immediatamente dopo il lavaggio, quindi i micropozzetti possono essere lasciati capovolti su tessuto assorbente privo di garza per un massimo di 15 minuti. I reagenti sono bilanciati per ciascun kit dunque reagenti appartenenti a diversi lotti di produzione non possono essere combinati. Il fotometro e tutte le pipette impiegate dovrebbero essere opportunamente tarati prima dell'uso.

### Lavaggio

L'efficacia del processo di lavaggio è vitale per ottenere una buona precisione. I micropozzetti vengono lavati utilizzando un lavapiastre automatico. Evitare travasi della soluzione di lavaggio da un micropozzetto all'altro.

### Controllo di qualità

In ogni sessione analitica vanno inseriti campioni di controllo per assicurare una procedura corretta. I valori dei controlli devono essere compresi nei range del laboratorio per poter validare l'analisi.

### PROCEDURA OPERATIVA

#### Preparazione dei Reagenti

**Soluzione di lavaggio**  
Diluire 1 a 15 il concentrato di lavaggio con acqua deionizzata. La soluzione di lavaggio può essere conservata a temperatura ambiente (20-25°C) per 12 settimane.

#### Soluzione Substrato

Si raccomanda di preparare questo reagente appena prima dell'uso. Per la preparazione aggiungere 1 tavoletta di OPD per ogni 5 ml di tampone substrato (calcolare il corretto numero di tavolette in base alla quantità di tampone necessario). Dopo che le tavolette si sono completamente sciolte

(1-2 minuti) e non restano più bolle, rimettere il tappo al contenitore e mescolare per inversione. Tenere al riparo dalla luce diretta. La soluzione di substrato deve essere utilizzata entro 30 minuti dalla preparazione.

#### Calibratori e Riferimento

##### Positivo

Per ricostituire i calibratori liofilizzati e il Riferimento Positivo, aggiungere la quantità di acqua deionizzata indicata sull'etichetta di ciascun flacone. Lasciar riposare fino al completo scioglimento del liofilo (almeno 30 minuti) quindi miscelare delicatamente per inversione. Le esatte concentrazioni calibratori, determinate lotto per lotto, sono riportate su un foglio a parte all'interno del kit. Dopo la ricostituzione, i calibratori/ riferimenti positivi devono essere conservati a -20°C per un tempo massimo di due settimane.

##### Protocollo

Per il test quantitativo preparare un'intera curva di calibrazione. Per il test qualitativo utilizzare solo il calibratore A (controllo negativo), il riferimento positivo e il calibratore E (controllo positivo).

1. Disporre i micropozzetti nel telaio a seconda del numero di test desiderati. Riporre e conservare i pozzetti inutilizzati a 2-8°C.

2. Pipettare 50 µL di campione (calibratore, riferimento positivo, campione) ripetutamente nei pozzetti appropriati. Il tempo impiegato per dispensare i campioni non deve superare i 20 minuti.

3. Coprire i micropozzetti con l'apposito coperchio ed incubare per 5 minuti su un agitatore per micropiastre a temperatura ambiente (20-25°C).

4. Dopo l'incubazione, lavare i micropozzetti. Aspirare il liquido e risciacquare ciascun pozzetto per quattro volte con 250 µL di soluzione di lavaggio. Dopo il lavaggio finale, capovolgere i micropozzetti e tamponare con fermezza con tessuto assorbente per rimuovere completamente il liquido di lavaggio. Assicurarsi di non lasciare bolle d'aria nei pozzetti.

5. Pipettare 100 µL di Anticorpo Reattivo hCG (blu) in tutti i micropozzetti.

6. Coprire i micropozzetti con l'apposito coperchio ed incubare per 15 minuti su un agitatore per micropiastre a temperatura ambiente (20-25°).

7. Dopo l'incubazione ripetere il processo di lavaggio.

8. Pipettare 100 µL di Reagente hCG di Amplificazione (violetto) in tutti i micropozzetti.

9. Coprire i micropozzetti con l'apposito coperchio ed incubare per 10 minuti su un agitatore per micropiastre a temperatura ambiente (20-25°C).

10. Dopo l'incubazione ripetere la fase di lavaggio.

11. Pipettare 100 µL di soluzione substrato in tutti i micropozzetti. La durata del processo di incubazione si misura a partire dall'aggiunta della soluzione di substrato al primo micropozzetto.

12. Coprire i micropozzetti con il coperchio ed incubare per 5 minuti, senza agitazione, a temperatura ambiente (20-25°C).

13. Pipettare 50 µL 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in tutti i micropozzetti rispettando l'ordine e la sequenza temporale impiegati nell'aggiunta della soluzione di substrato.

14. Leggere in end-point a 490 nm ed elaborare i dati come descritto nel manuale d'uso del lettore di micropiastre. La fase di lettura deve essere effettuata entro 30 minuti dal termine della reazione.

#### CALCOLO DEI RISULTATI

Il calcolo dei risultati può essere effettuato manualmente se non è possibile effettuare una riduzione automatica dei dati. Determinare la densità ottica (DO) per ciascun micropozzetto.

##### Test quantitativo

Tracciare la curva di calibrazione su carta bilogarithmica riportando la concentrazione dei calibratori sull'asse x e la DO sull'asse y. La curva può essere disegnata punto per punto o utilizzando una routine di interpolazione, basata per es. sulle funzioni di spline. Interpolare i valori campione con i valori DO misurati da questa curva di calibratore. Registrare il valore di ciascun campione in IU/L di hCG. Il range di misurazione del kit *ELEGANCE* hCG ELISA si estende da 0 a circa 500 IU/L, ma la massima concentrazione affidabilmente misurabile è limitata dalle caratteristiche di linearità del fotometro impiegato. Se il valore di DO del calibratore più alto è al di sopra del range del fotometro, allora questo calibratore deve essere omesso dal grafico della curva di calibrazione.

##### Test qualitativo

Confrontare il valore di DO (campione) con il valore di DO (Riferimento Positivo). I risultati vanno espressi in percentuale rispetto al valore di Riferimento Positivo.

Negativo < 85%  
Positivo > 100%  
Borderline 85-100%

In casi di borderline, il test dovrebbe essere rieseguito con un campione preso dal paziente dopo 48 ore.

#### ESEMPIO DI CALCOLO

Valori di endpoint

ID	DO media	hCG (IU/L)
0	0.036	
5	0.069	
15	0.141	
50	0.345	
150	0.985	
500	2.529	
Campione 1	0.116	11.6
Campione 2	0.227	28.5
Campione 3	0.845	128.6

#### CALIBRAZIONE

I calibratori forniti con questo kit sono espressi in IU/L e calibrati contro il riferimento internazionale WHO 3rd IS 75/537.

#### LIMITAZIONI

Campioni di sangue che mostrano eccesso di emolisi, elevato grado di lipemia o torpidità possono portare a risultati alterati.

#### VALORI ATTESI

Si raccomanda che ciascun laboratorio stabilisca il proprio valori di riferimento basandosi su un campione rappresentativo della popolazione. L'hCG non è secreto nei maschi in salute, nelle femmine post menopausa e nelle femmine non in stato interessante. Il range di riferimento che segue è stato ottenuto utilizzando campioni di sangue di persone in stato interessante e viene riportato solo a scopo di esempio:

Settimane dopo l'ultimo periodo mestruale	Range hCG (IU/L)
2 - 3	100 - 19400
4 - 5	78 - 48030
6 - 7	75 - 99410
8 - 12	5750 - 48200
> 12	10740 - 13470

#### CARATTERISTICHE DI PRECISIONE

##### Precisione entro la serie

Campione	n	Media ± 2SD (IU/L)	%CV
1	16	8.0 ± 1.4	8.8
2	16	23.6 ± 2.6	5.5
3	16	58.7 ± 7.2	6.1

##### Precisione fra le serie

Campione	n*	Media ± 2SD (IU/L)	%CV
1	33	8.5 ± 2.0	11.8
2	33	25.7 ± 6.1	11.9
3	33	138.2 ± 22.0	8.0

\*in duplicato

##### Specificità

Analita	Concentrazione misurata	Risultato hCG apparente (IU/L)
hLH	177 IU/L	6,5
	88 IU/L	< 2
hFSH	165 IU/L	< 2
hTSH	1150 mIU/L	< 2

##### Accuratezza

Il recupero è calcolato come differenza fra due dosaggi, prima e dopo l'aggiunta di analita esogeno.

Campione	hCG (IU/L) Misurato	hCG (IU/L) Atteso	% Recupero
1	8.7	8.9	97.8
2	25.6	25.5	100.4
3	41.0	40.0	102.5
4	158.7	159.7	99.4

##### Diluizione

Un campione è stato diluito con il calibratore zero, è stato testato e se ne è calcolato il recupero:

Campione	hCG (IU/L) Misurato	hCG (IU/L) Atteso	% Recupero
Intero	130.3		
1/2	67.7	65.2	103.8
1/4	32.6	32.6	100.0
1/8	15.7	16.3	96.3

##### Effetto gancio alle alte dosi

A causa dell'effetto "gancio" alle alte dosi, caratteristico del test, i campioni superiori a 1,000,000 IU/L possono condurre a risultati aberranti, inferiori a quelli del più alto calibratore del kit. Tali campioni devono essere diluiti con il calibratore zero e rianalizzati.

##### Sensibilità

La sensibilità del metodo è tipicamente inferiore a 2 IU/L.

La sensibilità è definita come quella concentrazione di analita che corrisponde a un segnale strumentale (DO) il quale disti due deviazioni standard dalla media della DO ottenuta misurando in tre diverse serie 16 replicati del calibratore zero.

##### Interferenza

Non è stata osservata nessuna interferenza con il recupero dell'analita per concentrazioni di emoglobina fino a 250 mg/dL, bilirubina fino a 10 mg/dL e trigliceridi fino a 970 mg/dL.

#### INFORMAZIONI PER ORDINARE

Il kit *ELEGANCE* ELISA hCG è prodotto da:

Bioclone Australia Pty Limited,  
71-73 Railway Parade, Marrickville,  
NSW 2204, AUSTRALIA  
Telefono +61 (0) 2 9517 1966 Numero verde 1800 251 138  
Fax +61 (0) 2 9517 2990  
Email sales@bioclone.com.au Web www.bioclone.com.au

#### ASSISTENZA TECNICA

Bioclone fornisce una completa assistenza tecnica telefonando al +61 (0) 2 9517 1966 o al Numero verde 1800 251 138