



BIOCLONE

# ELEGANCE KIT ELISA LH

REF 40 430096

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



Hitachi Chemical Diagnostics Inc.

Hitachi Europe Limited, Whitebrook Park, Lower Cookham Road  
Maidenhead, Berkshire, SL6 8YA, UK. Phone: +44 1628 585 591

## FINALITA' D'USO

Il kit *ELEGANCE* ELISA LH è stato sviluppato per la determinazione quantitativa diagnostica in vitro dell'ormone luteinizzante (LH) umano presente nel siero e nel plasma.

## PRINCIPIO OPERATIVO DEL KIT *ELEGANCE* ELISA LH

L'ELISA è un metodo immunoenzimatico. L'antigene presente nel campione, come in un sandwich, si lega sia all'anticorpo adesivo al micropozzetto della micropiastrella sia all'anticorpo biotinilato reattivo. 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 la soluzione substrato che reagisce con la perossidasi rimasta legata producendo colore. Il colore risulta direttamente proporzionale alla quantità di antigene presente nel campione che può essere calcolata dalla curva di calibrazione.

## *ELEGANCE* REAGENTI FORNITI, STABILITA' E CONSERVAZIONE

Composizione della confezione - 96 tests. 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.

## LH: Micropozzetti Rivestiti

96 micropozzetti REF#LHA96

La confezione contiene micropozzetti rivestiti con l'anticorpo anti-LH.

Pronti all'uso.

## LH: Anticorpo Reattivo

1 flacone REF# LHB96

5 mL di anticorpo anti-LH biotinilato in una soluzione tampone contenente albumina sierica bovina addizionata di siero animale non immune e di colorante blu. Contiene azide sodica, 0.2% p/v e tiomersale, 0.01% p/v. Pronto all'uso.

## LH: Reagente di Amplificazione

1 flacone REF # LHP96

10 mL di streptavidina-perossidasi (streptavidina estratta da *S. avidinii*) in una soluzione tampone contenente albumina sierica di origine bovina ed un 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 tampone citrato-fosfato. Contiene tiomersale, 0.01 % p/v.

## Compresse di Substrato

1 Flacone REF # EST4

4 x 4 mg, compresse di ortofenilendiamina (OPD) con ingredienti inattivi.

## LH: Calibratori

6 Flaconi REF # ELHS1-6

0.5 mL ciascuno in siero di provenienza umana. Contiene azide sodica, 0.1% p/v. Liofilizzati.

## PRECAUZIONI ED AVVER-

### TENZE 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 E CALBRATORI

I componenti costitutivi dei calibratori sono stati testati con metodi approvati ed accreditati al fine di stabilire la presenza di antigeni di superficie per l'epatite B, anticorpi per l'epatite C ed anticorpi contro HIV-1/2 (AIDS) e sono risultati non reattivi a tutte le indagini sopra elencate. Si raccomanda di manipolare tutti i campioni con le precauzioni d'uso relative ai prodotti potenzialmente infettivi.

## CONSERVANTI

Il kit contiene azide sodica, tiomersale e Bronidox L come conservanti. La presenza di tali conservanti nei reattivi rende gli stessi potenzialmente tossici e pertanto consigliabile maneggiare i vari componenti del kit con cautela, evitando l'ingestione o il contatto con la cute. L'azide sodica potrebbe reagire con le tubature in piombo o rame dei lavelli formando azoturi metallici potenzialmente esplosivi.

## SUBSTRATO

Evitare qualsiasi contatto con la cute.

## RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

Non è richiesta una preparazione specifica del paziente. Si possono impiegare campioni sia di siero che plasma, raccolti con le modalità previste per le analisi di laboratorio. E' preferibile l'utilizzo di siero ma anche l'impiego di eparina come anticoagulante non pregiudica l'accuratezza dell'analisi.

AVVERTENZA: non usare EDTA come anticoagulante.

E' preferibile evitare campioni visibilmente emolizzati, lipemici e con un elevato grado di torbidità. I campioni sono stabili a 2-8°C se processati entro 48 ore, per tempi più lunghi è consigliabile congelare i campioni a -20°C, evitando congelamenti e scongelamenti ripetuti. A scongelamento avvenuto i campioni vanno verificati per la presenza di tracce di impurità e mescolati per inversione immediatamente prima dell'uso. Campioni torbidi o flocculati vanno centrifugati prima di essere processati.

## MATERIALE RICHIESTO NON COMPRESO NEL KIT

- Acqua distillata o deionizzata
- 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- Pipette di precisione
- Pipette multiple
- Cilindro graduato da 1 litro
- Carta assorbente
- contaminuti
- agitatore vortex
- sistema di lettura per micropiastre
- agitatore per micropiastre
- sistema di lavaggio per micropiastre

## NOTE PROCEDURALI

Portare i reattivi ed i campioni a temperatura ambiente (20-25°C) miscelandoli delicatamente per inversione prima dell'uso.

L'eventuale contaminazione dei reattivi potrebbe determinare una riduzione delle prestazioni del metodo.

Si raccomanda di operare in duplicato.

La curva di calibrazione deve essere ripetuta ad ogni determinazione. I campioni con concentrazioni presumibilmente superiori al valore del calibratore più alto devono essere diluiti prima dell'analisi con il calibratore zero. Tutti i passaggi analitici della metodica devono essere effettuati consecutivamente evitando interruzioni; se subito dopo un lavaggio non è possibile pipettare immediatamente il Reagente di Amplificazione o la soluzione substrato i micropozzetti possono attendere al massimo 15', capovolti sulla carta assorbente.

I reagenti sono bilanciati in ogni kit è pertanto consigliabile non mescolare reattivi provenienti da lotti diversi.

Il fotometro e tutte le pipette devono essere opportunamente tarate prima dell'utilizzo.

## LAVAGGI

L'attenzione e l'accuratezza durante la fase di lavaggio sono fondamentali per garantire una buona precisione del metodo. E' opportuno usare un sistema automatico di lavaggio dei micropozzetti; in ogni caso è da evitare la tracimazione della soluzione di lavaggio da un micropozzetto all'altro.

## CONTROLLO DI QUALITA'

In ogni sessione analitica vanno inseriti campioni di controllo che devono risultare entro le specifiche fissate dal laboratorio per poter validare l'analisi.

## PROCEDURA OPERATIVA

### Preparazione dei Reagenti

#### Soluzione di lavaggio

Diluire 1 a 15 la soluzione di lavaggio concentrata con acqua deionizzata. La soluzione di lavaggio è stabile a temperatura ambiente (20-25°C) per 12 settimane.

#### Soluzione Substrato

Si raccomanda di preparare la soluzione appena prima dell'uso. Per la preparazione aggiungere una compressa di OPD per ogni 5 mL di tampone substrato. (calcolare il corretto numero di compresse in base alla quantità di tampone necessario). Attendere il completo

dissolvimento delle compresse (1-2 minuti) verificando che non rimangano bolle, quindi tappare il contenitore e miscelare per inversione. Tenere al riparo dalla luce diretta. Utilizzare la soluzione di substrato entro 30 minuti dalla preparazione.

#### Calibratori

Per la ricostituzione dei calibratori liofilati aggiungere il volume di acqua deionizzata riportato sull'etichetta di ciascun flacone. Lasciar riposare fino al completo scioglimento del liofilo (almeno 30 minuti) e quindi miscelare delicatamente per inversione. Le esatte concentrazioni dei calibratori, determinate lotto per lotto, sono riportate su un foglio a parte all'interno del kit. I calibratori, così ricostituiti, sono stabili fino a 4 settimane se conservati a -20°C.

#### Protocollo

- Prelevare dalla confezione solo i micropozzetti necessari, in base al numero di test richiesti. Richiudere la confezione e riportarla a 2-8°C.
- Pipettare 50 µL di campione (calibratore, controllo) in doppio, nei micropozzetti appropriati. Dispensare i campioni in un tempo non superiore ai 20 minuti.
- Pipettare 50 µL di Reagente Anticorpo LH (blu) in tutti i micropozzetti.
- Coprire i micropozzetti con l'apposito coperchio ed incubare per 30 minuti, su agitatore per micropiastre a temperatura ambiente (20-25°C).
- Dopo incubazione, lavare i micropozzetti come segue: eliminare il liquido e risciacquare ciascun micropozzetto con 250 µL di soluzione di lavaggio, ripetendo la procedura quattro volte. Dopo il lavaggio finale, capovolgere i micropozzetti ed asciugarli appoggiandoli sulla carta assorbente al fine di rimuovere la soluzione di lavaggio. Verificare che non ci siano bolle d'aria nei micropozzetti.
- Pipettare 100 µL di Reagente Coniugato LH (violetto) in tutti i micropozzetti.
- Coprire i micropozzetti con l'apposito coperchio ed incubare per 10 minuti, su agitatore per micropiastre a temperatura ambiente (20-25°C).

- Dopo l'incubazione ripetere la fase di lavaggio.
- Pipettare 100 µL di soluzione substrato in ciascun micropozzetto. Il tempo di inizio dell'incubazione viene calcolato a partire dall'aggiunta della soluzione di substrato al primo micropozzetto.
- Coprire i micropozzetti con l'apposito coperchio ed incubare per 5 minuti, su agitatore per micropiastre a temperatura ambiente (20-25°C).
- Pipettare 50 µL di 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in tutti i micropozzetti rispettando lo stesso ordine e le sequenze temporali impiegate nell'aggiunta della soluzione substrato.
- Leggere in end-point a 490 nm ed analizzare i dati seguendo le modalità riportate sul manuale operativo 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 il lettore non dispone di programmi di interpolazione automatica. Determinare la Densità ottica (DO) per ogni micropozzetto. Disegnare la curva di calibrazione tracciando un grafico su carta bilogarithmica dove riportare la concentrazione dei calibratori sull'asse x e la DO sull'asse delle y. La curva può essere tracciata congiungendo i punti con segmenti di retta o mediante una routine di interpolazione basata per esempio sulle funzioni di spline. Dalla curva si risale infine, per interpolazione, al valore incognito del campione. Il valore di ciascun campione è espresso in IU/L di LH. Il range del kit *ELEGANCE* ELISA LH va da 0 a circa 150 IU/L, ma il valore massimo riferibile dipende dalle caratteristiche di linearità ottica del fotometro usato. Se il valore di DO del calibratore più alto è al di sopra del range del fotometro, questo calibratore deve essere omesso dal grafico della curva del calibratore.

#### ESEMPIO DI CALCOLI

Valori di end-point

ID	DO	LH (IU/L)
0	0.048	
2	0.091	
5	0.160	
15	0.390	
50	1.129	
150	2.962	
campione 1	0.135	4.0
campione 2	0.461	17.8
campione 3	1.382	61.9

#### CALIBRAZIONE

I calibratori inclusi nel kit sono espressi in IU/L e calibrati contro il riferimento internazionale WHO 1988 2<sup>nd</sup> IS 80/552.

#### LIMITAZIONI

Campioni di siero che presentano evidente emolisi, elevato grado di lipemia e torbidità possono portare a risultati alterati.

#### VALORI ATTESI

Si raccomanda che ciascun laboratorio stabilisca i propri valori di riferimento basandosi su un campione di individui rappresentativi della popolazione afferente. Il range di riferimento che segue è stato ottenuto dall'analisi di campioni di siero provenienti da individui in buona salute e viene fornito solo come guida di riferimento:

	n	LH range (IU/L)
femmine	fase follicolare	2.0 - 14.0
	fase ovulatoria	> 14.0
	fase luteinica	1.0 - 16.0
	menopausa	> 20.0
maschi	89	1.0 - 13.0

#### PRESTAZIONI CARATTERISTICHE

##### Precisione entro la serie

Campione	n	media ± 2SD (IU/L)	%CV
1	16	5.0 ± 0.4	4.0
2	16	16.2 ± 1.2	3.7
3	16	46.5 ± 3.0	3.2

##### Precisione fra le serie

Campione	n*	media ± 2SD (IU/L)	%CV
1	17	4.7 ± 0.8	8.5
2	17	19.3 ± 2.3	6.0
3	17	65.1 ± 9.0	6.9

\*in duplicato

##### Specificità

Analisti	concentrazione Misurata	valori di LH (IU/L)
HCG	28000 IU/L	non determinabile
TSH	288 mIU/L	non determinabile
FSH	165 IU/L	non determinabile

##### Accuratezza

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

Campione	LH (IU/L) misurata	LH (IU/L) attesa	% recupero
1	6.41	6.26	102.4
2	17.55	17.68	99.3
3	40.80	40.45	100.9
4	61.30	60.00	102.2

##### Diluizioni

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

Campione	LH (IU/L) misurata	LH (IU/L) attesa	% recupero
intero	48.31		
1/2	23.25	24.16	96.2
1/4	12.34	12.08	102.2
1/8	5.96	6.04	98.7
1/16	2.70	3.02	89.4

##### Effetto gancio ad alte dosi

Per le caratteristiche del test, che rendono possibile la presenza dell'effetto "gancio" (hook) alle dosi più alte, si possono verificare risultati aberranti in campioni con valori superiori a 1000 IU/L.

Questi campioni devono essere diluiti con il calibratore zero e rianalizzati.

##### SENSIBILITÀ

La sensibilità del metodo è tipicamente inferiore a 0.5 IU/L.

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

##### INTERFERENZE

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

#### INFORMAZIONI PER GLI ORDINI

Il kit *ELEGANCE* ELISA LH 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 chiamando il numero +61 (0) 2 9517 1966 o il numero verde 1800 251 138.