



ELEGANCE KIT ELISA PROGESTERONE

REF 40 490096

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 Progesterone e' stato sviluppato per il dosaggio quantitativo in vitro a fini diagnostici del progesterone (P₄) nel siero o nel plasma.

PRINCIPI

L' ELISA è un metodo immunoenzimatico. Il test utilizza un anticorpo monoclonale murino anti progesterone, e un anticorpo policlonale anti Ig di topo, adeso ai micropozzetti della micropiastra. Il metodo e' di tipo competitivo a passaggio unico; il segnale e' generato da un coniugato progesterone-perossidasi di rafano. Dopo l'aggiunta di siero, durante l'incubazione il progesterone del siero e quello del coniugato competono per l' anticorpo monoclonale anti progesterone, il quale viene a sua volta catturato dagli anticorpi anti topo adesi ai micropozzetti. Si effettua un lavaggio che elimina i reagenti rimasti liberi, e si aggiunge il substrato, che reagirà con la perossidasi legata ai micropozzetti, dando luogo a una intensità di colore inversamente proporzionale alla concentrazione di progesterone nel siero. Tale concentrazione verrà calcolata tramite opportuna curva di calibrazione.

Reagenti inclusi, stabilità e conservazione

Numero di test - 96. Il kit e tutti i suoi componenti, nuovi o già avviati, vanno conservati a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata.

Progesterone: Strisce di micropozzetti sensibilizzati 96 micropozzetti REF # P4A96

Cornice racchiudente strisce di micropozzetti sensibilizzati con anticorpi policlonali anti IgG murine. Pronto all'uso.

Progesterone: Reattivo Anticorpo 1 flacone REF # P4B96

5 mL di anticorpo monoclonale anti progesterone di origine murina, in soluzione tamponata contenente sieroproteine animali e un colorante azzurro. Contiene Bronidox L 0.2% v/v e tiomersale 0.01% p/v. Pronto all'uso.

Progesterone:

Reattivo Coniugato 1 flacone REF # P4C96

5 mL di progesterone coniugato a perossidasi di rafano, in soluzione tamponata contenente 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 15x. Contiene tiomersale 0.09% p/v.

Da diluire prima dell'uso.

Soluzione substrato TMB N

1 flacone REF # TMBB96
10 mL contenente 3,3',5,5' tetrametilbenzidina (TMB N) e perossido di idrogeno in soluzione stabilizzante.
Pronta all'uso.

Progesterone: Calibratori

6 flaconi REF # EP4S1-6
Flaconi per 2 mL (calibratore A) e 0.5 mL (calibratori da B a F), tutti in matrice di siero umano. Contengono tiomersale 0.01 p/v. Liofilizzati.

PRECAUZIONI E AVVERTENZE

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 calibratori

Il materiale di partenza dei calibratori e' stato testato secondo metodiche approvate e certificate ed e' risultato non reattivo per antigene di superficie dell'epatite B, anticorpi anti epatite C e anticorpi anti HIV 1-2 (AIDS). Tuttavia si raccomanda che tutti i campioni vengano trattati come potenzialmente infettivi.

Conservanti

Il kit impiega tiomersale e Bronidox L come conservanti. Poiche' i reattivi contengono additivi potenzialmente tossici, vanno maneggiati con cautela evitando ingestione e contatto cutaneo.

Substrato.

Evitare il contatto cutaneo.

RACCOLTA E TRATTAMENTO DEL CAMPIONE

Il paziente non richiede una preparazione specifica. Si possono impiegare siero o plasma, raccolti con le modalita' consuete per le analisi di laboratorio. E' preferibile l'utilizzo di siero ma anche l'impiego di anticoagulanti quali eparina o EDTA non compromette l'accuratezza dell'analisi. E' preferibile evitare campioni fortemente emolizzati, lipemici e con un elevato grado di torbidità. I campioni possono essere mantenuti a 2-8°C se processati entro 48 ore. Per una conservazione più prolungata è consigliabile congelare i campioni a -20°C, evitando congelamenti e scongelamenti ripetuti. Verificare che i campioni scongelati non contengano materiale flocculato e mescolarli per inversione prima dell'uso. Centrifugare prima dell'uso i campioni torbidi o flocculati.

MATERIALI E ATTREZZATURE NECESSARI MA NON FORNITI

- Dischetti con gli allergeni Acqua distillata o deionizzata
- 1M H₂SO₄
- Pipette di precisione
- Pipette multiple
- Cilindro in vetro da 1L
- Carta bibula
- Contaminuti
- Agitatore vortex
- Agitatore rotorobitali per micropiastre
- Sistema di lavaggio per micropiastre
- Sistema di lettura per micropiastre

NOTE SULLA PROCEDURA

Portare i reagenti a temperatura ambiente (20-25°C) e mescolare gentilmente per inversione prima dell'uso. Operare preferibilmente in duplicato. La contaminazione dei reattivi ne degrada le prestazioni. E' necessaria una nuova curva di calibrazione per ogni sessione analitica. I campioni, la cui concentrazione si sospetta ecceda la concentrazione assegnata al calibratore superiore, vanno prediluiti con calibratore zero prima di analizzarli. Tutti i passaggi analitici vanno effettuati consecutivamente; se subito dopo un lavaggio non e' possibile pipettare immediatamente il coniugato o il substrato, i micropozzetti possono attendere al massimo 15', collocandoli capovolti su una carta bibula priva di pelucchi. Reagenti da kit di lotti diversi non vanno mescolati fra loro. Pipette e lettore fotometrico devono risultare adeguatamente calibrati al momento dell'uso.

Lavaggio

L'efficacia del lavaggio e' cruciale per la buona riuscita della procedura. I micropozzetti vanno lavati preferibilmente con sistema automatizzato. Evitare trascinamenti del liquido di lavaggio fra micropozzetti contigui.

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 DEL TEST

Preparazione dei reattivi d'uso. Soluzione di lavaggio.

Diluire la soluzione di lavaggio concentrata 1 a 14 con acqua deionizzata. La soluzione di lavaggio d'uso e' stabile 12 settimane a temperatura ambiente.

Calibratori.

Ricostituire i calibratori liofilizzati con la quantita' di acqua deionizzata indicata su ogni etichetta. Lasciare sciogliere completamente il liofilizzato, tenendo i flaconi a riposo per almeno 30' e poi mescolare gentilmente per inversione. Le concentrazioni assegnate ai calibratori variano con il lotto e sono riportate in un foglio a parte allegato al kit. Dopo la ricostituzione, i calibratori possono essere conservati fino a 4 settimane congelandoli a -20°C.

Protocollo del test.

1. Inserire nella cornice della micropiastra un numero di strisce di micropozzetti adeguato al n. di test. Reimbustare subito le altre e riporre in frigo.
2. Pipettare 50 uL di campioni, calibratori e controlli, in duplicato, nei micropozzetti loro assegnati. Non prolungare questa fase oltre i 40'.
3. Pipettare 50 uL di progesterone coniugato (flacone viola) in tutti i micropozzetti.

4. Pipettare 50 uL di anticorpo antiprogesterone (flacone azzurro) in tutti i micropozzetti.

5. Coprire la micropiastre col coperchio e incubare un'ora su agitatore orbitale a temperatura ambiente (20-25°C)

6. Terminata l'incubazione, lavare i micropozzetti 4 volte, aspirando il liquido dai micropozzetti e poi immettendo 250 uL di liquido di lavaggio diluito. Dopo l'ultima aspirazione, capovolgere la piastra su una superficie assorbente e scolarla bene, picchiettandola contro il piano. Evitare che rimangano bolle nei micropozzetti.

7. Pipettare 100 uL di soluzione di substrato TMB N in ogni micropozzetto. La durata dell'incubazione si calcola dall'aggiunta di substrato al primo micropozzetto.

8. Coprire le micropiastre e incubare senza agitazione per 5 minuti a temperatura ambiente (20-25°C).

9. Pipettare 50 uL di soluzione d'arresto 1M H₂SO₄ in tutti i micropozzetti, rispettando la stessa sequenza e le temporizzazioni di aggiunta del substrato.

10. Leggere la piastra a 450 nm su lettore per micropiastre entro 15 minuti dall'arresto, e analizzare i dati secondo le istruzioni riportate dal manuale del lettore.

CALCOLO DEI RISULTATI

In mancanza di un sistema automatico di analisi dei dati, si può procedere manualmente come segue. Determinare la densità ottica per ogni micropozzetto. Su carta millimetrata bilogarithmica tracciare la curva di calibrazione ponendo in ascissa (asse x) le concentrazioni assegnate ai calibratori e in ordinata (asse y) le densità ottiche misurate. La curva può essere ottenuta connettendo i punti con segmenti di spezzata o adattando una curva interpolante, ad es. una logistica a 4 parametri. Sulla curva così tracciata si individua la densità ottica dei campioni e da essa si risale alla concentrazione di ogni campione, espressa in nmol/L.

Il range del kit elegance progesterone elisa va da 0 a circa 100 nmol/L, ma il minimo valore refertabile dipende dalle caratteristiche di linearità ottica del fotometro. Se la DO del campione zero eccede il range ammissibile del fotometro, il campione zero va escluso dalla curva di calibrazione

ESEMPIO DI CALCOLO

ID	DO	P ₄ (nmol/L)
0	2.815	
1.0	2.230	
3.0	1.723	
10	0.867	
30	0.367	
100	0.128	
campione 1	1.523	3.79
campione 2	0.457	23.40
campione 3	0.224	53.30

CALIBRAZIONE

I calibratori inclusi nel kit sono espressi in nmol/L. Per passare alle unità tradizionali impiegare il seguente fattore di conversione:

$$\text{ng/mL P}_4 = \frac{\text{nmol/L P}_4}{3.18}$$

LIMITAZIONI

Campioni macroscopicamente emolizzati, lipemici o torbidi possono dare falsi risultati.

VALORI ATTESI

E' consigliabile che ogni laboratorio stabilisca i propri limiti basandosi su una opportuna popolazione di riferimento. Di seguito a puro titolo indicativo si forniscono i valori ottenuti sul siero di un certo numero di soggetti sani. I valori sono espressi come intervallo di confidenza al 95%:

	n	Range (nmol/L)
Adult maschi	68	< 4.5 (2.2)
Adult femmine		
fase follicolare	36	0.7 - 3.5 (2.2)
fase luteinica	40	>> 5.0*
menopausa	11	< 1.6 (0.7)

* generally <60 nmol/L; () bracketed numbers are mean

During pregnancy

1st trimester	< 100	nmol/L
2nd trimester	100 - 300	nmol/L
3rd trimester	> 300	nmol/L

PRESTAZIONI CARATTERISTICHE

Precisione entro la serie

Campione	n	media ± 2SD (nmol/L)	%CV
1	16	3.35 ± 0.34	5.1
2	16	18.50 ± 0.91	2.5
3	16	41.40 ± 2.62	3.2

Precisione fra le serie

Campione	n*	media ± 2SD (nmol/L)	%CV
1	40	3.40 ± 0.59	8.7
2	40	19.90 ± 2.87	7.2
3	40	46.40 ± 6.79	7.3

* in duplicato

Accuratezza

Il recupero e' stato calcolato mediante misurazioni prima e dopo l'aggiunta di analita esogeno

Campione	P ₄ (nmol/L) Misurato	P ₄ (nmol/L) Atteso	% recupero
1	4.64	4.77	97.3
2	5.36	5.12	104.6
3	5.79	6.12	94.6
4	8.59	9.62	89.3

Linearita'

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

Campione	P ₄ (nmol/L) Misurato	P ₄ (nmol/L) Atteso	% recupero
intero	21.0		
1/2	10.4	10.5	99.0
1/4	5.1	5.3	97.1
1/8	2.5	2.6	96.2

Specificita'

Analita	% crossreattività
Progesterone*	100,00
17α-OH-Progesterone	1,80
Pregnenolone	1,10
Deoxycorticosterone	0,47
Androstenediol	<0,20
Colesterol	<0,20
Corticosterone	>0,20
Cortisol	<0,20
11-Deoxycortisol	<0,20
17α-Estradiol	<0,20
17β-Estradiol	<0,20
Estriol	<0,20
Estrone	<0,20
Pregnanolone	<0,20
20α-OH-Progesterone	<0,20
20β-OH-Progesterone	<0,20
Testosterone	<0,20

Sensibilita'

La sensibilità del metodo e' tipicamente inferiore a 0.25 nmol/L.

La sensibilità è definita come quella concentrazione di analita che corrisponde al segnale strumentale misurato (DO) il quale disti due deviazioni standard dalla media della DO ottenuta misurando in tre diverse serie 20 replicati del calibratore zero.

Interferenze

Prove di recupero hanno mostrato assenza di interferenza analitica per concentrazioni di emoglobina fino a 250 mg/dL, di bilirubina fino a 10 mg/dL e di trigliceridi fino a 970 mg/dL.

INFORMAZIONI PER L'ORDINE

Il kit ELEGANCE ELISA PROGESTERONE 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.