



# ELEGANCE KIT ELISA TSH NEONATALE

REF 40 450480

Σ 480

REF 40 452400

Σ 2400

ITALIANO



## GARANZIA

Il fabbricante garantisce per il suo prodotto esclusivamente la sua capacità di misurare l'analita specificato, a condizione che si seguano le 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

## FINALITÀ D'USO

Il kit *ELEGANCE* ELISA TSH Neonatale è stato creato per la misurazione diagnostica quantitativa *in vitro* dell'ormone tireostimolante (TSH) su gocce di sangue umano neonatale (spot test).

## PRINCIPIO OPERATIVO DELL'ELEGANCE ELISA

L'*ELEGANCE* ELISA è un test immunoenzimatico. Il TSH è dapprima eluito dallo spot di sangue e, contemporaneamente, si lega all'anticorpo TSH presente nel micropozzetto. L'antigene del campione si lega sia all'anticorpo unito al micropozzetto sia all'anticorpo biotinilato del reagente (tecnica sandwich). Si effettua un lavaggio dei micropozzetti per eliminare i componenti non legati. Si aggiunge la Streptavidina-perossidasi (Reagente di Amplificazione) che forma legami multipli con l'anticorpo biotinilato. Dopo il lavaggio, la Soluzione Substrato reagisce con la perossidasi coniugata producendo una quantità di colore direttamente proporzionale alla quantità di antigene presente nel campione. La quantità di antigene può essere calcolata dalla curva di calibrazione.

## ELEGANCE REAGENTI FORNITI, STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Composizione delle confezioni - 480 test e 2400 test (tra parentesi). 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 indicata.

## Neonatale TSH:

### Micropozzetti rivestiti

#### 1 x 96 micropozzetti

REF # TNA96

#### 5 x 96 micropozzetti

REF # TNA5

#### (25 x 96 micropozzetti

REF # TNA25)

Confezione contenente micropozzetti rivestiti di anticorpo anti-TSH. Pronta per l'uso.

## Neonatale TSH:

### Anticorpo Reattivo

#### 1 flacone REF # TNB480

#### (1 flacone REF # TNB25)

50 (250) ml di anticorpo anti-TSH biotinilato in una soluzione tampone contenente sieralbumina bovina, sieri animali non-immuni e un colorante blu. Contiene azide sodica, 0.2% p/v, e tiomersale, 0.01% p/v. Pronta per l'uso.

## Neonatale TSH:

### Reagente di Amplificazione

#### 1 flacone REF # TNP480

#### (1 flacone REF # TNP25)

50 (250) ml di streptavidina-perossidasi (streptavidina estratta da *S. avidinii*) in una soluzione tampone contenente sieralbumina bovina e un colorante violetto. Contiene Bronidox L, 0.2% v/v, e tiomersale, 0.02% p/v. Pronta per l'uso.

## Soluzione di Lavaggio

### Concentrata

#### 1 flacone REF # EWC5

#### (2 flaconi REF # EWC25)

250 (500) ml di soluzione di lavaggio concentrata 15 volte. Contiene tiomersale, 0.09% p/v. Diluire prima dell'uso.

## Tampone di Eluizione

### 1 flacone REF # EEB5

### (1 flacone REF # EEB25)

50 (250) ml di soluzione tampone contenente sieralbumina bovina. Contiene azide sodica, 0.1% p/v. Pronta per l'uso.

## Soluzione Substrato

### TMB H

#### 1 flacone REF # ETMB5

#### (1 flacone REF # ETMB25)

50 (250) ml 3,3', 5,5' di tetrametilbenzidina e perossido di idrogeno in soluzione stabilizzante. Pronta per l'uso.

## Soluzione di Stop

### 1 flacone REF # ESS5

### (1 flacone REF # ESS25)

30 (124) ml 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Pronta per l'uso.

## Neonatale TSH:

### Calibratori e Controlli degli

### Spot di sangue

#### 1 set REF # ETNS6

#### (4 set REF # ETNS7)

Spot secchi di TSH umano con 6 calibratori (A-F) e 2 controlli (1-2) su carta filtrante. Pronti per l'uso.

## PRECAUZIONI E AVVERTENZE PER GLI UTILIZZATORI

Il trattamento dei campioni e dei componenti del kit, il loro uso, conservazione ed eliminazione, devono essere effettuati secondo le norme e procedure di sicurezza locali o nazionali.

## Campioni e Calibratori

Il materiale originale degli spot è stato testato con metodi approvati e accreditati per verificare

l'eventuale presenza di antigeni di superficie per l'epatite B, anticorpi per l'epatite C ed anticorpi contro HIV - 1/2 (AIDS): è risultato non reattivo per nessuno di essi.

Tuttavia, si raccomanda di maneggiare tutti i campioni come se potessero trasmettere malattie infettive.

## Conservanti

Il kit contiene i seguenti conservanti: azide sodica, tiomersale e Bronidox L. Siccome i reagenti contengono conservanti potenzialmente tossici, maneggiandoli bisogna prestare attenzione ad evitare ingestione o contatto con la cute. L'azide sodica può reagire con le tubature in piombo o rame formando azoturi metallici potenzialmente esplosivi.

## Soluzione Substrato e Soluzione di Stop

Evitare qualsiasi contatto con la cute.

## RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

L'*ELEGANCE* ELISA TSH Neonatale è stato creato per essere utilizzato con campioni di sangue neonatale raccolti mediante prelievo capillare da puntura del tallone ed essiccati su carta filtrante secondo le istruzioni NCCLS LA4A, dove applicabili. Tuttavia il sangue del cordone ombelicale può essere utilizzato dopo una verifica del processo. La carta filtrante deve essere Schleicher and Schuell Grade 903 in modo che i campioni siano equivalenti ai calibratori forniti.

Il sangue per un prick test neonatale del tallone si raccoglie 3-5 giorni dopo la nascita. Con un'applicazione della carta filtrante su una goccia di sangue fuoriuscente dal tallone punto del bimbo si ottiene uno spot di sangue che ricopre un'area circolare campione sulla carta filtrante. L'area campione su carta filtrante deve essere interamente ricoperta e completamente impregnata di sangue. Dopo aver raccolto i campioni per il test, bisogna lasciare asciugare le carte filtranti orizzontalmente (2 ore o più). Gli specimen asciutti possono essere conservati a 2-8°C. Si devono analizzare solo gli spot di sangue preparati nel modo suddetto. Le carte filtranti inutilizzate devono essere asciugate a temperatura ambiente (20-25°C).

## MATERIALI E STRUMENTI NECESSARI MA NON FORNITI

- \* Acqua distillata o deionizzata
- \* Tagliatrice meccanica di dischi (3mm)
- \* Pinze
- \* Pipette a ripetizione
- \* Cilindro graduato da 11
- \* Tessuto assorbente (privo di filaccia)
- \* Timer
- \* Agitatore per micropiastre
- \* Sistema di lavaggio automatico per micropiastre
- \* Sistema di lettura per micropiastre.

## NOTE PROCEDURALI

Portare tutti i reattivi e i campioni a temperatura ambiente (20-25°C) e mescolarli delicatamente per inversione prima dell'uso. La contaminazione dei reagenti porta a prestazioni di qualità scadente. Si raccomanda di operare in duplicato.

La curva di calibrazione deve essere realizzata per ogni test. Prima del primo lavaggio, i dischetti devono essere rimossi per suzione o pungendoli delicatamente con uno spillo.

Tutti i passaggi della metodica devono essere eseguiti in successione evitando interruzioni. E' possibile interrompere l'esecuzione solo se ai micropozzetti non è stato ancora aggiunto il Reagente di Amplificazione, o la Soluzione Substrato, allora si possono lasciare le micropiastre capovolte su un tessuto privo di filaccia per un massimo di 15 minuti (Reagente di Amplificazione) e 60 minuti (Soluzione Substrato).

I reagenti sono bilanciati in ogni kit, pertanto è consigliabile non mescolare reagenti di lotti diversi. Prima dell'uso bisogna tarare adeguatamente il fotometro e tutte le pipette utilizzate.

## Lavaggio

L'efficacia dell'operazione di lavaggio è vitale per ottenere una buona precisione. I micropozzetti si lavano utilizzando un lavapiastre automatico. Evitare la trascinazione della soluzione di lavaggio da un micropozzetto all'altro.

## Controllo di qualità

Per assicurare una corretta procedura è bene effettuare un controllo degli specimen ad ogni test. Per approvare il test, i valori di controllo devono situarsi nei range di laboratorio.

## PROCEDURA OPERATIVA

### Preparazione dei Reagenti

#### Soluzione di Lavaggio

Diluire 1 a 15 la soluzione concentrata di lavaggio con acqua deionizzata.

La soluzione di lavaggio può essere conservata a temperatura ambiente (20-25°C) per 12 settimane.

#### Calibratori e Controlli

Le concentrazioni esatte dei calibratori, determinate lotto per lotto, sono riportate su un foglio a parte per ogni set di spot di sangue. Per evitare la condensazione, non aprire gli spot di sangue prima del riequilibrio della temperatura. Richiudere ermeticamente nella borsa di plastica le strisce impregnate inutilizzate e conservarle a 2-8°C.

#### Protocollo

1. Disporre sulla piastra solo il numero di micropozzetti necessari, in base al numero di test da effettuare. Rimettere nella loro borsa i micropozzetti inutilizzati e riporla a 2-8°C.

2. Operando in duplicato, deporre un singolo dischetto di 3 mm (calibratore, controllo, campione) nei micropozzetti appropriati. Nel tagliare i dischetti del campione, tenersi al centro della macchia evitando i bordi.

3. Pipettare 100 µl di Tampone di Eluizione (trasparente) in tutti i micropozzetti.

4. Coprire i micropozzetti con il coperchio e incubare 60 minuti in un agitatore per micropiastre a temperatura ambiente (20-25°C).

5. Pipettare 100 µl di Anticorpo Reagente anti-TSH neonatale (blu) in tutti i micropozzetti.

6. Coprire i micropozzetti con il coperchio e incubare per 60 minuti in un agitatore per micropiastre a temperatura ambiente (20-25°C).

7. Dopo l'incubazione, rimuovere i dischetti.

8. Lavare i micropozzetti.

Aspirare il liquido e sciacquare ogni pozzetto 4 volte con 250 µl di Soluzione di Lavaggio. Dopo il lavaggio finale, capovolgere i micropozzetti su tessuto assorbente e battere con fermezza per rimuovere qualsiasi resto della Soluzione di Lavaggio. Assicurarsi che non restino bolle d'aria nei micropozzetti.

9. Pipettare 100 µl di Reagente TSH Neonatale di Amplificazione (violetto) in ogni micropozzetto.

10. Coprire i micropozzetti con il coperchio e incubare per 10 minuti in un agitatore per micropiastre a temperatura ambiente (20-25°C).

11. Dopo l'incubazione, ripetere la fase di lavaggio.

12. Pipettare 100 µl di Soluzione Substrato in tutti i micropozzetti. Il tempo di incubazione si calcola a partire dall'aggiunta della Soluzione Substrato al primo micropozzetto.

13. Coprire i micropozzetti con il coperchio e incubare per 10 minuti senza agitazione a temperatura ambiente (20-25°C).

14. Pipettare 50 µl di Soluzione di Stop in tutti i micropozzetti, rispettando lo stesso ordine e le medesime sequenze temporali impiegati nell'aggiunta della Soluzione Substrato.

15. Realizzare una lettura in end-point a 450 nm ed elaborare i dati come descritto nel manuale d'uso del lettore di micropiastre. Questo processo di lettura deve essere effettuato entro 5 minuti dal termine della reazione.

## CALCOLO DEI RISULTATI

Il calcolo dei risultati può essere effettuato manualmente se non si dispone di programmi di interpolazione automatica.

Determinare la densità ottica (DO) per ogni micropozzetto. Tracciare la curva di calibrazione utilizzando carta bilogarithmica per grafici, riportando la concentrazione dei calibratori sull'asse X e la DO sull'asse Y. La curva può essere tracciata punto per punto o usando una routine di interpolazione di curve, basata, per esempio, sulle funzioni di spline. Interpolare i valori del campione utilizzando la DO misurata in questa curva di calibrazione. Esprimere il valore per ogni campione in mIU/l su sangue intero.

Il range dell'*ELEGANCE* TSH Neonatale va da 0 a circa 250 mIU/l nel sangue intero, ma la concentrazione massima effettivamente misurabile è limitata dalle caratteristiche di linearità ottica del fotometro utilizzato.

Se il valore di DO del calibratore più alto è superiore al range del fotometro, allora si deve omettere questo calibratore dal diagramma della curva di calibrazione. Parimenti, qualsiasi campione con valore superiore al range del lettore di micropiastre deve essere annotato semplicemente come maggiore del più alto calibratore accettabile.

## ESEMPIO DI CALCOLI

Valori di end-point

| ID         | DO Media | TSH (mIU/l) |
|------------|----------|-------------|
| 0          | 0.038    |             |
| 6.11       | 0.088    |             |
| 11.3       | 0.163    |             |
| 26.0       | 0.359    |             |
| 96.0       | 1.345    |             |
| 231        | 3.009    |             |
| Campione 1 | 0.244    | 17.30       |
| Campione 2 | 0.955    | 66.90       |
| Campione 3 | 0.104    | 7.42        |

## LIMITAZIONI

La prova non dovrebbe essere usata per rilevare l'ipotiroidismo in quelle che sono stati transfusi o i trattamenti di terapia dell'anticorpo, o in infanti prematuramente nati.

## CALIBRAZIONE

I calibratori e i controlli forniti in questo kit sono stati preparati da sangue umano con un valore di ematocrito del 55% (v/v) e sono espressi in mIU/l su sangue intero (OMS 1° IRP 68/38 per il TSH umano).

Si può fare una conversione delle unità standard utilizzando il seguente rapporto:

$$\text{mIU/l siero} = \text{mIU/l sangue intero} \times 2.2$$

## VALORI ATTESI

Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca una propria scala di riferimento basata su un campione di popolazione rappresentativo. Normalmente, per i neonati di 3-5 giorni si usa un valore di cut-off di 20 mIU/l su sangue intero. Si considerano normali i campioni con misura inferiore al cut-off positivo presunto. I casi di ipotiroidismo congenito attuali normalmente registrano almeno 40 mIU/l nel sangue intero, ma ne sono stati registrati anche di estremamente bassi, come 25 mIU/l nel sangue intero.

## PRESTAZIONI CARATTERISTICHE

### Precisione entro la serie

| Campione | n  | Media ± 2SD (mIU/l sangue intero) | %CV |
|----------|----|-----------------------------------|-----|
| 1        | 20 | 4.9 ± 0.57                        | 5.8 |
| 2        | 20 | 14.5 ± 2.00                       | 6.9 |
| 3        | 20 | 41.7 ± 3.20                       | 3.8 |

### Precisione fra le serie

| Campione | n * | Media ± 2SD (mIU/l sangue intero) | %CV |
|----------|-----|-----------------------------------|-----|
| 1        | 11  | 6.1 ± 0.85                        | 7.0 |
| 2        | 11  | 16.6 ± 2.10                       | 6.3 |
| 3        | 11  | 37.8 ± 2.80                       | 3.7 |

\* in quadruplicato

### Specificità

| Analita | Concentrazione misurata | TSH apparente (mIU/l W.B) | Reattività crociata |
|---------|-------------------------|---------------------------|---------------------|
| LH      | 450 IU/L                | <1                        | N.D.                |
| FSH     | 450 IU/L                | <1                        | N.D.                |
| hCG     | 45,000 IU/L             | <1                        | N.D.                |
| TSH     | 57.4 mIU/l              | 56.8                      | 99%                 |

### Accuratezza

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

| Campione | TSH misurato (mIU/l W.B.) | TSH atteso (mIU/l W.B.) | % Recupero |
|----------|---------------------------|-------------------------|------------|
| 1        | 16.4                      | 16.9                    | 97.0       |
| 2        | 21.8                      | 23.0                    | 94.8       |
| 3        | 64.7                      | 63.1                    | 102.5      |

### Diluizione

Un campione è stato diluito nel siero zero, poi testato, indi si è calcolato il recupero.

| Campione    | TSH misurato (mIU/l W.B.) | TSH atteso (mIU/l W.B.) | % Recupero |
|-------------|---------------------------|-------------------------|------------|
| Non diluito | 33.2                      |                         |            |
| 1/2         | 16.7                      | 16.6                    | 100.6      |
| 1/4         | 8.8                       | 8.3                     | 106.0      |
| 1/8         | 4.5                       | 4.2                     | 107.1      |

### High-dose Hook Effect

Non si è riscontrato alcun effetto Hook, caratteristico di questo test, in campioni con valori di TSH che raggiungessero o includessero il limite del test di 4700 mIU/l in sangue intero.

### Sensibilità

La sensibilità del test normalmente è inferiore a 1 mIU/l su sangue intero. Si definisce "sensibilità" la 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 28 replicati del calibratore zero.

## INFORMAZIONI PER LE ORDINAZIONI

L'*ELEGANCE* NEONATAL TSH ELISA 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

L'assistenza tecnica è disponibile chiamando Bioclone al +61 (0) 2 9517 1966 o al Numero Verde 1800 251 138