



BIOCLONE

# ELEGANCE KIT ELISA TSH

REF 40 460096

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 ELISA ELEGANCE TSH è stato sviluppato per la determinazione quantitativa diagnostica *in-vitro* dell'ormone stimolante la tiroide umana (TSH) presente nel siero e nel plasma.

## PRINCIPIO OPERATIVO DEL KIT ELISA ELEGANCE

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 soluzione substrato che reagisce con la perossidasi rimasta legata con produzione di colore che risulta direttamente proporzionale alla quantità di antigene del campione. L'antigene presente nel campione può essere determinato quantitativamente 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.

## TSH: Micropozzetti Rivestiti

96 micropozzetti REF#TSA96

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

## TSH: Anticorpo Reattivo

1 flacone REF# TSB96

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

## TSH:

### Reagente di Amplificazione

1 flacone REF # TSP96

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 di citrato-fosfato. Contiene tiomersale, 0.01 % p/v.

## Tavolette di Substrato

1 flacone REF # EST4

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

## TSH: Calibratori

6 flacone REF # ETSS1-6

1.0 mL ciascuno in siero bovino. Contiene azide sodica, 0.1% p/v. Liofilizzato.

## PRECAUZIONI ED 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 E CALIBRATORI

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 sodio azide, tiomersale e Bronidox L come conservanti. La presenza di tali conservanti nei reattivi rende gli stessi potenzialmente tossici, è pertanto consigliabile maneggiare i vari componenti del kit con attenzione, 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 richiesto un trattamento particolare dei campioni. Si possono utilizzare campioni sia di siero che plasma, raccolti in modo appropriato per le analisi di laboratorio. E' preferibile l'utilizzo di siero ma anche l'impiego di anticoagulanti quali eparina o EDTA non pregiudica 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. Al momento dello scongelamento i campioni vanno verificati per la presenza di tracce di impurità e mescolati per inversione subito prima dell'uso. Campioni torbidi o flocculati vanno centrifugati prima dell'uso.

## MATERIALE RICHIESTO NON COMPRESO NEL KIT

- Acqua distillata o deionizzata
- 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- Pipette di precisione
- Pipette a ripetizione
- Cilindro graduato da 1 litro
- Carta assorbente
- contaminuti
- agitatore vortex
- agitatore per micropiastre
- sistema di lavaggio per micropiastre
- lettore 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 performance 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 piu' alto devono essere diluiti prima dell'analisi con il calibratore zero.

I vari passaggi della metodica devono essere eseguiti in successione evitando interruzioni. E' possibile interrompere l'esecuzione, per un massimo di 15 minuti, solo se ai micropozzetti, subito dopo il lavaggio, non è stato ancora aggiunto il Reagente di Amplificazione o la soluzione substrato; in questo caso i micropozzetti possono essere lasciati, capovolti, sulla carta assorbente.

E' consigliabile non mescolare reattivi provenienti da lotti diversi. Il fotometro e 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 trascinazione della soluzione di lavaggio da una 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 può essere conservata 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 tavoletta di OPD per ogni 5 mL di tampone substrato (calcolare il corretto numero di tavolette in base alla quantità di tampone necessario). Attendere il completo dissolvimento delle tavolette

(1-2 minuti), 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 ricostituire i calibratori liofilati aggiungere il volume di acqua deionizzata indicato su ciascuna etichetta del 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. Dopo la ricostituzione i calibratori sono stabili fino a 4 settimane a -20 °C.

#### Protocollo

- Prelevare dalla confezione solo i micropozzetti necessari, in base al numero di test richiesti. Reimbustare i rimanenti e riporli a 2-8 °C.
- Pipettare 150 µL di campione (calibratore, controllo...) in doppio, nei micropozzetti appropriati. Dispensare i campioni in un tempo non superiore ai 20 minuti.
- Coprire i micropozzetti con l'apposito coperchio ed incubare per 30 minuti su agitatore per micropiastre a temperatura ambiente (20-25°C)
- Pipettare 50 µL di Anticorpo Reagente TSH (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 la seconda incubazione, lavare i micropozzetti come segue: per quattro volte, eliminare il liquido e risciacquare ciascun micropozzetto con 250 µL di soluzione di lavaggio. 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 TSH di Amplificazione (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 copripozzetti ed incubare per 5 minuti, senza agitazione a temperatura ambiente (20-25°C).
- Pipettare 50 µL di 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in tutti i micropozzetti rispettando l'ordine e le temporizzazioni 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 es. sulle funzioni di spline. Dalla curva infine si risale per interpolazione al valore incognito del campione. Registrare il valore per ciascun campione in mIU/L di TSH. Il range del kit *ELEGANCE* ELISA TSH va da 0 a circa 40 mIU/L, ma la concentrazione massima affidabilmente misurabile può risultare limitata dalle caratteristiche di linearità 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 di calibrazione.

#### ESEMPIO DI CALCOLO

Valori di endpoint

ID	DO	TSH (mIU/L)
0	0.059	
0.2	0.098	
0.6	0.199	
2.5	0.564	
11.7	1.688	
42.5	2.964	
campione 1	0.290	1.04
campione 2	1.541	10.31
campione 3	2.820	35.90

#### CALIBRAZIONE

I calibratori forniti con questo kit sono espressi in mIU/L e calibrati contro il riferimento internazionale WHO 1983 2<sup>nd</sup> IRP 80/558.

#### 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:

n	TSH Range (mIU/L)
maschi e femmine sane	188 0.4 - 4.0

#### PRESTAZIONI CARATTERISTICHE

##### Precisione entro la serie

Campione	n	media ± 2SD (mIU/L)	%CV
1	16	1.1 ± 0.09	4.0
2	16	16.2 ± 1.60	4.9
3	16	32.0 ± 4.40	6.8

##### Precisione fra le serie

Campione	n*	media ± 2SD (mIU/L)	%CV
1	21	1.2 ± 0.33	7.0
2	21	15.4 ± 2.20	7.2
3	21	26.4 ± 5.00	9.5

\* in duplicato

##### Specificità

Analita	concentrazione misurata	risultati TSH (mIU/L)
hCG	280000 IU/L	non determinabile
LH	88 IU/L	< 0.2
FSH	83 IU/L	< 0.1

##### Accuratezza

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

Campione	TSH (mIU/L) Misurato	TSH (mIU/L) Atteso	% recupero
1	0.77	0.69	111.6
2	5.30	5.00	106.0
3	14.30	14.40	99.2
4	27.90	27.40	102.2

##### Linearità

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

Campione	TSH (mIU/L) Misurato	TSH (mIU/L) Atteso	% recupero
intero	13.60		
1/2	6.70	6.80	99.0
1/4	3.30	3.40	97.0
1/8	1.70	1.70	102.2

##### Effetto gancio ad alte dosi

Per le caratteristiche del test, che rendono possibile la presenza di effetto "gancio" (hook) alle dosi più alte, si possono verificare risultati aberranti in campioni con valori superiori a 36000 mIU/L. Tali campioni devono essere diluiti con il calibratore zero e rianalizzati.

##### SENSIBILITÀ

La sensibilità del metodo è tipicamente inferiore a 0.05 mIU/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.

##### 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 IGE è prodotto da :

Bioclone Australia Pty Limited  
71-73 Railway Parade, Murrumbidgee  
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](mailto:sales@bioclone.com.au) Web [www.bioclone.com.au](http://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.

PART No.: EKBTSI Ed.5 Data di Revisione 14 gennaio 2006