



BIOCLONE

ELEGANCE

KIT ELISA ORMONE DELLA CRESCITA NELLE URINE

REF 40 GHU96

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 UGH è stato sviluppato per la determinazione quantitativa diagnostica in vitro dell'ormone della crescita umano urinario (UGH) nelle urine.

PRINCIPIO OPERATIVO DEL KIT ELEGANCE ELISA UGH

Il kit ELEGANCE ELISA si basa su un metodo immunoenzimatico. Il GH presente nel campione si lega agli anticorpi anti -GH adesi al micropozzetto della micropiastre e successivamente reagisce con altri anticorpi biotinilati. I micropozzetti vengono lavati al fine di rimuovere i componenti non legati. Viene aggiunta 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 che risulta direttamente proporzionale alla quantità di antigene presente nel campione. Quest'ultima 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.

GH: Micropozzetti Rivestiti 96 micropozzetti REF # GHA96

La confezione contiene micropozzetti rivestiti con l'anticorpo anti-GH. Pronti all'uso.

GH: Anticorpo Reattivo 1 flacone REF # GHB96

10 mL di anticorpo anti-GH 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.

GH: Reagente di Amplificazione 1 flacone REF# GHP96

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.

Soluzione di substrato TMB H 1 Flacone REF # ETMB96

10 mL di 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina e perossido d'idrogeno in una soluzione stabilizzante. Pronta all'uso.

UGH: Calibratori

6 Flaconi REF # HGHSU1-6

1.0 mL ciascuno in una soluzione all' 1% di BSA PBS. Contiene azide sodica, 0.1% p/v.

Liofilizzati.

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 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. Sono necessari campioni di urine raccolti con le modalità previste per le analisi di laboratorio.

I campioni sono stabili a 2-8°C se processati entro 48 ore, per tempi più lunghi è consigliabile congelare i campioni ad una temperatura di almeno -20°C, evitando congelamenti e scongelamenti ripetuti. A scongelamento avvenuto i campioni vanno verificati per la presenza di tracce di impurità o flocculati e mescolati per inversione immediatamente prima dell'uso.

MATERIALE RICHIESTO NON COMPRESO NEL KIT

- * Acqua distillata o deionizzata
- * 2M HCL
- * 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 minuti, 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'efficienza della fase di lavaggio è cruciale 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 un micropozzetto all'altro.

Controllo di qualità

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.

Calibratori

Per ricostituire i calibratori liofilici è necessario aggiungere il volume di acqua deionizzata riportato sull'etichetta di ciascun flacone. Lasciar riposare i flaconi 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

1. Prelevare dalla confezione solo i micropozzetti necessari, in base al numero di test richiesti. Richiudere la confezione e riportarla a 2-8°C.

2. Pipettare 200 µL di campione (calibratore, controllo) in doppio, nei micropozzetti appropriati. Dispensare i campioni in un tempo non superiore ai 20 minuti.

3. Coprire i micropozzetti con l'apposito coperchio ed incubare per 90 minuti, su agitatore per micropiastre a temperatura ambiente (20-25°C).

4. Dopo incubazione, lavare i micropozzetti come segue: eliminare il liquido e risciacquare ciascun micropozzetto con 300 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.

5. Pipettare 100 µL di Anticorpo Reagente GH (blu) in tutti i micropozzetti.

6. Coprire i micropozzetti con l'apposito coperchio ed incubare per 90 minuti, su agitatore per micropiastre a temperatura ambiente (20-25°C).

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

8. Pipettare 100 µL di Reagente di Amplificazione GH (viola) in ciascun micropozzetto

9. Coprire i micropozzetti con l'apposito coperchio ed incubare per 30 minuti, su 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. Il tempo di inizio dell'incubazione viene calcolato a partire dall'aggiunta della soluzione di substrato al primo micropozzetto.

12. Coprire i micropozzetti con l'apposito coperchio ed incubare per 15 minuti, senza agitazione a temperatura ambiente (20-25°C).

13. Pipettare 50 µL di 2M HCL in tutti i micropozzetti rispettando lo stesso ordine e le stesse sequenze temporali impiegate nell'aggiunta della soluzione substrato.

14. Leggere in end-point a 450 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 (OD) per ogni micropozzetto. Disegnare la curva di calibrazione tracciando un grafico su carta bilogaritmica 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 pg/mL di UGH. Il range del kit ELEGANCE ELISA UGH varia da 0 a circa 200 pg/mL, ma il valore massimo referabile dipende dalle caratteristiche di linearità ottica del fotometro usato. Se il valore di OD 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 CALCOLI

ID	OD	UGH (pg/mL)
0	0.152	
5	0.223	
10	0.332	
50	1.028	
100	1.827	
200	3.193	
campione 1	0.440	15.85
campione 2	1.027	48.20
campione 3	1.891	103.43

CALIBRAZIONE

I calibratori inclusi nel kit sono espressi in pg/mL e calibrati contro il riferimento internazionale WHO 1988 1^a IS 80/505.

Accuratezza

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

Campione	UGH (pg/mL) misurata	UGH (pg/mL) attesa	% recupero
1	36.4	38.3	95.0
2	64.8	65.0	99.7
3	123.5	120.8	102.2

Diluizioni

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

Campione	UGH (pg/mL) misurata	UGH (pg/mL) attesa	% recupero
intero	114.7		
1/2	54.8	57.3	95.6
1/4	26.4	28.7	92.0
1/8	12.7	14.3	88.8
1/16	7.1	7.2	98.6

SENSIBILITÀ

Sono state effettuati 5 e più dosaggi degli standard di GH urinario 0pg/mL e 5 pg/mL, trattandoli come campioni. Per entrambi si sono calcolati media e deviazione standard delle rispettive densità ottiche. La "media più" due DS del calibratore 0 pg/mL" era inferiore alla "media meno due DS del calibratore 5 pg/mL".

INTERFERENZE

Non è stata osservata alcuna interferenza con il recupero dell'analita per concentrazioni di emoglobina fino a 500 mg/dL, bilirubina libera fino a 20 ml/dL, bilirubina coniugata fino a 20 ml/dL, e torbidità da grassi fino a 2.000 gradi turbidimetrici.

INFORMAZIONI PER GLI ORDINI

Il kit ELEGANCE ELISA UGH 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.

PART No.: EKBUGH1 Ed.7 Data di Revisione 31 gennaio 2009

VALORI ATTESI

Si raccomanda che ciascun laboratorio stabilisca i propri valori di riferimento basandosi su un campione di individui rappresentativi della popolazione afferente.

PRESTAZIONI CARATTERISTICHE

Precisione entro la serie

Campione	n	media ± 2SD (pg/mL)	%CV
1	10	14.41 ± 0.70	2.4
2	10	42.46 ± 2.22	2.6
3	10	98.69 ± 6.05	3.1

Precisione fra le serie

Campione	n*	media ± 2SD (pg/L)	%CV
1	16	15.68 ± 4.24	13.5
2	16	40.08 ± 7.94	9.9
3	16	73.39 ± 10.98	7.5

*in duplicato

Specificità

La DO dei controlli era compresa fra l'80-120% della loro concentrazione nota.