



# KIT SUBUNITÀ $\alpha$ -GLICOPROTEINA LIBERA

REF 20 222050

$\Sigma$  50

REF 20 222500

$\Sigma$  500

ITALIANO



## GARANZIA

Il fabbricante non emette alcuna esplicita garanzia per il kit diagnostico tranne che per la sua capacità di misurare l'analita scelto, a condizione che si seguano le istruzioni scritte fornite dal fabbricante stesso. L'uso del kit diagnostico a qualsiasi altro titolo esula dall'impiego previsto per il prodotto ed è a rischio e pericolo dell'utente. 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 suoi 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](http://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

## IMPIEGO PREVISTO

Il kit IRMA Free  $\alpha$ -Glycoprotein Subunit è stato creato per la misurazione diagnostica quantitativa *in vitro* della subunità  $\alpha$ -glicoproteina libera nel siero o nel plasma.

## PRINCIPI DELL'IRMA

L'IRMA è un sistema di analisi immunoradiometrico a doppio anticorpo. L'antigene del campione si lega (tecnica "sandwich") sia all'anticorpo marcato con iodio  $^{125}\text{I}$  sia all'anticorpo legato alle particelle di polistirene magnetizzabile (Fase solida). Dopo l'incubazione il "sandwich" risultante è lasciato sedimentare, poi si elimina il soprannatante e si lava per rimuovere il tracciante radioattivo rimasto non legato. Le provette contenenti il "sandwich" sedimentato sono poi misurate con un contatore gamma. La concentrazione dell'analita è direttamente proporzionale alla radioattività legata del "sandwich". I conteggi dei calibratori vengono messi in grafico e i valori dei campioni vengono letti sulla curva di calibrazione così costruita.

## REAGENTI FORNITI, STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Dimensioni del kit - 50 test e 500 test (tra parentesi). Il kit e tutti i suoi componenti, nuovi o già avviati, devono essere conservati a 2-8°C fino alle date di scadenza indicate.

## Subunità $\alpha$ -Glicoproteina libera: Tracciante

1 flacone REF # AGII  
(1 flacone REF # AGI260)

27 (260) mL contenenti l'anticorpo anti-subunità  $\alpha$ -glicoproteina libera marcato con  $^{125}\text{I}$  (9.6 $\mu\text{Ci}$ /96 $\mu\text{Ci}$ ) in tampone BSA PBS, siero animale non immune e un colorante arancione. Contiene sodio azide, 0.1% p/v. Pronto per l'uso.

## Subunità $\alpha$ -Glicoproteina libera: Fase solida

1 flacone REF # AGA1  
(1 flacone REF # AGA260)

27 (260) mL contenenti anticorpo anti-subunità  $\alpha$ -glicoproteina libera legato a particelle di polistirene magnetizzabile in tampone BSA PBS e un colorante blu. Contiene sodio azide, 0.1% p/v.

Risospendere con delicatezza prima dell'uso.

## Concentrato di lavaggio

1 flacone REF # CGW1  
(2 flaconi REF # CGW1)

10 mL di soluzione di lavaggio 15 x concentrata. Contiene sodio azide, 1.5% p/v. Diluire prima dell'uso.

## Subunità $\alpha$ -Glicoproteina libera: Calibratori

7 flaconi REF # AGS1-7  
(14 flaconi REF # AGS1-7)

1.0 mL ognuno in siero umano. Contiene sodio azide, 0.1% p/v. Pronti per l'uso.

## PRECAUZIONI E AVVERTENZE PER GLI UTILIZZATORI

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

### Campioni e calibratori

Il materiale originale dei calibratori è stato sottoposto a test con un metodo approvato e accreditato per verificare l'eventuale presenza dell'antigene di superficie dell'epatite B, dell'anticorpo dell'epatite C e dell'anticorpo 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 sodio azide come conservante. Siccome i reagenti contengono un conservante potenzialmente tossico, bisogna prestare attenzione, maneggiandoli, ad evitare ingestione o contatto con la pelle. Il sodio azide può reagire con il piombo e le tubature di rame formando azidi potenzialmente esplosive.

### Materiale radioattivo

Il tracciante contiene materiale radioattivo.

## RACCOLTA E MANEGGIO DEI CAMPIONI

Non è richiesta alcuna preparazione speciale del paziente. I campioni possono essere di siero o plasma, raccolti in modo appropriato per l'analisi di laboratorio. Il siero è preferibile, comunque l'anticoagulante eparina o l'EDTA possono essere impiegati senza sacrificare l'accuratezza.

Evitare campioni con eccesso emolitico, lipemico o torbidi. I campioni possono essere conservati a 2-8°C fino a 48 ore. Per periodi più lunghi, i campioni devono essere conservati a una temperatura di -20°C o inferiore. Non congelare e scongelare ripetutamente i campioni. Verificare nei campioni scongelati la presenza di materia flocculenta e mescolarli per inversione subito prima del test.

I campioni torbidi o contenenti particolati devono essere centrifugati prima dell'uso.

## MATERIALI E STRUMENTI NECESSARI MA NON FORNITI

- \* Acqua distillata o deionizzata
- \* Provette di plastica monouso per analisi 12 x 75 mm
- \* Pipette di precisione
- \* Pipette a ripetizione
- \* Agitatore Vortex
- \* Timer
- \* Rack magnetici o centrifuga refrigerata con una capacità di 1500 x g
- \* Carta assorbente
- \* Contatore gamma

## NOTE DI PROCEDURA

Portare tutti i reagenti e i campioni a temperatura ambiente (20-25°C) e mescolarli delicatamente per inversione prima dell'uso.

### Non usare un agitatore magnetico per risospendere la fase solida del reagente.

Si raccomanda di operare in duplicato.

La contaminazione dei reagenti porta a prestazioni scadenti. Si dovrebbe realizzare una curva di calibrazione per ogni test. I campioni che si sospetta abbiano concentrazioni superiori al calibratore più alto devono essere diluiti nel calibratore zero prima del test.

Tutti i passi del test devono essere eseguiti senza interruzione.

I reagenti sono bilanciati in ogni kit, quindi non si devono mescolare reagenti di lotti diversi. Prima dell'uso bisogna calibrare adeguatamente il contatore gamma e tutte le pipette da utilizzare.

### Lavaggio

L'efficacia dell'operazione di lavaggio è vitale per ottenere una buona precisione.

### 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 DI ANALISI

### Preparazione dei Reagenti

#### Soluzione di lavaggio

Diluire 1 a 15 il concentrato di lavaggio con acqua deionizzata. La soluzione di lavaggio può essere conservata a temperatura ambiente (20-25°C) per 6 mesi.

### Calibratori

Le concentrazioni esatte determinate per ogni lotto sono riportate su un'etichetta separata all'interno del kit. I calibratori devono essere conservati a -20°C.

### Protocollo

1. Operando in duplicato, disporre ed contrassegnare i tubi d'analisi in base al numero di test da effettuare. Includere i Conteggi Totali (TC), i calibratori, i controlli e i campioni dei pazienti.
2. Pipettare 50  $\mu\text{L}$  di campione (calibratore, controllo, specimen) in duplicato nelle provette appropriate.
3. Risospendere la Fase Solida della subunità  $\alpha$ -glicoproteina libera (blu-verde) mediante turbino e molteplice inversione del contenuto della bottiglia fino a che non sia più visibile alcun sedimento sul fondo - non agitare vigorosamente questo reagente.
4. Pipettare 500  $\mu\text{L}$  di Tracciante della subunità  $\alpha$ -glicoproteina libera (giallo) in tutte le provette. Mettere da parte le provette TC.
5. Pipettare 500  $\mu\text{L}$  di Fase Solida della subunità  $\alpha$ -glicoproteina libera (blu-verde) in tutte le provette, tranne in quelle TC.

6. Agitare le provette con delicatezza, quindi incubarle per 1 ora a temperatura ambiente.
7. La separazione del "sandwich" dall'anticorpo marcato non legato può essere ultimata usando la separazione magnetica o la centrifugazione.
- c) Togliere il rack dalla sua base d'appoggio magnetica. Lavare le provette aggiungendo in tutte 500 µL di soluzione di lavaggio. Agitare, lasciar sedimentare su base magnetica, svuotare e asciugare come sopra.

#### OPPURE

#### A. Separazione magnetica.

- a) Porre le provette nel rack di separazione magnetica ed assicurarsi che tutte le provette siano in contatto con la base magnetica. Lasciarle stare per 15 minuti. Si può migliorare la precisione aumentando il tempo di sedimentazione a 20 minuti.
- b) Dopo la separazione non togliere il rack dalla piastra di appoggio magnetica. Versare il sopranatante invertendo le provette (senza togliere la base magnetizzata) e lasciandole scolare su carta assorbente per due minuti.

#### B. Centrifugazione

- a) Centrifugare tutte le provette per 5 minuti a 1500 x g in una centrifuga refrigerata a 4°C. Versare il sopranatante e lasciare scolare le provette su carta assorbente per 2 minuti.
- b) Lavare le provette aggiungendo 500 µL di soluzione di lavaggio in ognuna di esse. Agitare, centrifugare, svuotare e asciugare come sopra.
8. Misurare tutte le provette per un minuto utilizzando un contatore gamma. Annotare il cpm di ogni provetta.
9. Calcolare i risultati.

#### CALCOLO DEI RISULTATI

Il calcolo dei risultati può essere effettuato manualmente se non si dispone di programmi di analisi dei dati.

- Determinare il cpm (count per minute) medio per i tubi duplicati.
- Tracciare la curva di calibrazione su carta semi-logaritmica o logaritmica usando uno dei metodi seguenti:

#### Metodo 1

Usare la seguente formula per calcolare la %B/T:

$$\%B/T = \frac{\text{cpm (campione)}}{\text{cpm TC}} \times 100$$

Tracciare la %B/T sull'asse y e mentre su quello x si trovano le concentrazioni dei calibratori stabilite.

#### Metodo 2

Tracciare i cpm sull'asse y e mentre su quello x si trovano le concentrazioni dei calibratori precisate.

- Leggere i valori dei campioni direttamente dalla curva di calibrazione, come IU/L.

#### ESEMPIO DI CALCOLI

ID	cpm medio	% B/T	αhCG IU/L 1° IRP
TC	231940		
0	195	0.08	
0.1	458	0.19	
0.5	2312	1.00	
2.5	9356	4.03	
5.0	16407	7.07	
25	58774	25.34	
100	110846	47.79	
Campione 1	1753	0.76	0.39
Campione 2	10259	4.42	2.50

#### CALIBRAZIONE

I calibratori forniti in questo kit sono calibrati ed espressi in IU/L per riferimento contro lo standard 1° IRP per αhCG 75/569.

#### LIMITAZIONI

I campioni di siero che mostrano un'importante emolisi, lipemia o torbidità possono dare risultati errati.

I campioni che contengono una valutabile radioattività di fondo non devono essere usati. Qualsiasi campione sospetto dev'essere controllato riguardo alla radioattività prima di effettuare l'analisi e dev'essere tenuto da parte fino a decadimento della radioattività, oppure si deve richiedere un nuovo campione.

#### VALORI ATTESI

Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca una propria scala di riferimento basata su un campione di popolazione rappresentativo. Il seguente range di riferimento è stato ottenuto analizzando campioni di siero provenienti da individui sani ed è fornito solo come guida:

Donne adulte	
in pre-menopausa	0.1 - 0.5 IU/L
in post-menopausa	0.6 - 1.5 IU/L
Uomini adulti	0.1 - 0.5 IU/L

#### CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE

##### Precisione Intra-serie

Campione	n	Media ± 2SD (IU/L)	%CV
1	20	0.35 ± 0.18	5.1
2	20	3.03 ± 0.11	3.9
3	20	37.40 ± 1.29	3.5

##### Precisione Inter-serie

Campione	n *	Media ± 2SD (IU/L)	%CV
1	20	0.38 ± 0.02	5.3
2	20	2.87 ± 0.15	5.2
3	20	32.50 ± 1.30	4.0

\* duplicato

##### Specificità

Analita	Concentrazione testata	αGP apparente (IU/L) risultati
LH	250 IU/L	1.80
FSH	250 IU/L	0.53
TSH	250 mIU/L	0.39

##### Accuratezza

Il recupero è stato calcolato testando prima e dopo l'aggiunta di analita esogeno (x). 25 µL di campione X sono stati aggiunti a 25 µL di ogni calibratore.

Campione	αGP (IU/L) osservato	αGP (IU/L) atteso	Recupero %
x (50 µL)	1.46		
x (25 µL) + 25 µL	0	0.74	101
	0.1	0.77	99
	0.5	1.07	109
	2.5	2.00	101
	5.0	3.30	102
	25	14.00	106
	100	50.00	98

##### Diluizione

Un campione è stato diluito nel calibratore zero, poi testato, quindi si è calcolato il recupero.

Campione	αGP (IU/L) osservato	αGP (IU/L) atteso	% Recupero
Non diluito	85.9		
1/2	44.5	42.9	104.0
1/4	21.4	21.5	99.6
1/8	10.1	10.7	94.0
1/16	5.2	5.3	97.0

##### High-dose Hook Effect

A causa dell'effetto Hook agli alti valori, caratteristico dei test immunoradiometrici, i campioni con valori superiori a 12,000 IU/L possono produrre risultati aberranti, inferiori a quelli del calibratore più alto del kit. Questi campioni devono essere diluiti nel calibratore zero e ristestati.

##### Sensibilità

La sensibilità del test è tipicamente inferiore a 0.03 IU/L.

La sensibilità è definita come quella concentrazione di analita che corrisponde a quella variabile dose-risposta (cpm) che dista due deviazioni standard dalla media della variabile dose-risposta di 10 determinazioni ripetute del calibratore zero effettuate in tre diverse prove.

##### Interferenza

Non si è osservata alcuna interferenza con il recupero dell'analita con concentrazioni di emoglobina superiori a 250 mg/dL, bilirubina superiore a 10 mg/dL e trigliceridi superiori a 970 mg/dL.

##### INFORMAZIONI PER LE ORDINAZIONI

Il FREE α-GLYCOPROTEIN SUBUNIT 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

PART No.: KBAGPI Ed 7

Data di revisione: 1 Giugno 2008