



KIT RIA ALS

REF 10 ALS50
 Σ 50

REF 10 ALS100
 Σ 100

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 RIA ALS è stato sviluppato per la determinazione quantitativa diagnostica in vitro della ALS (subunità acido-labile) presente nel siero e nel plasma.

PRINCIPIO DEL KIT RIA

Il RIA è un sistema radioimmunologico basato su una tecnica a doppio anticorpo.

L'analita presente nei campioni diluiti e nei calibratori compete con dell'anticorpo marcato con tracciante ¹²⁵I, per legarsi a una quantità predefinita di anticorpo.

Un secondo anticorpo legato a particelle di polistirene magnetizzabili (Reagente di Separazione) è usato per separare il tracciante ¹²⁵I complessato con l'anticorpo da quello rimasto libero. Successivamente alla sedimentazione, il supernatante viene separato dal pellet e quest'ultimo, contenente la radioattività rimasta legata, viene poi analizzato usando un contatore gamma. La concentrazione dell'analita è inversamente proporzionale alla radioattività rimasta legata al pellet. Si traccia il grafico dell'attività dei calibratori e da tale curva si desume la concentrazione dei campioni.

REATTIVI FORNITI, STABILITA' E CONSERVAZIONE

Composizione del kit - n. di test: 50 (fra parentesi i dati della confezione da 100 test)

Il kit e tutti i suoi componenti, nuovi o già avviati, devono essere conservati ad una temperatura compresa tra i 2-8°C sino alla data di scadenza riportata sulla confezione.

ALS: Tracciante

1 flacone REF # ALI1
(1 flacone REF # ALI2)

5.5 (10.5) mL contenenti ALS marcato con ¹²⁵I ($\leq 40k\beta q$), in tampone fosfati - albumina bovina ed un colorante rosso. Contiene azide sodica, (NaN₃), 0.1% p/v. Pronto all'uso.

ALS: Antisiero

1 flacone REF # ALA1
(1 flacone REF # ALA2)

5.5 (10.5) mL contenenti antisiero di coniglio anti-ALS diluito in tampone fosfati - albumina bovina in un colorante blu. Contiene NaN₃, 0.1% p/v. pronto all'uso.

Reagente di Separazione

1 flacone REF # SEP1
(1 flacone REF # SEP2)

13 (26) mL contenenti anticorpi di capra anti-coniglio complessati con particelle di polistirene magnetizzabile in tampone fosfati - albumina bovina. Contiene NaN₃, 0.1% p/v. Risospendere delicatamente prima dell'uso.

ALS: Calibratori

1 flacone REF # ZC1
(1 flacone REF # ZC2)

25 (50) mL di Calibratore A (concentrazione pari a 0 nmol/L) contenente una soluzione di tampone fosfati - albumina bovina concentrata 4 volte. Contiene NaN₃, 0.4% p/v. Diluire prima dell'uso.

5 flaconi REF # ALS2-6

1.0 mL ciascuno di calibratori B-F in tampone fosfati - albumina bovina. Contiene NaN₃, 0.1% p/v. Liofilizzati.

ALS: Controlli

2 flaconi REF # ALC1-2

1.0 mL ciascuno in tampone fosfati - albumina bovina. Contiene NaN₃, 0.1% p/v. Liofilizzati. Non diluire.

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 comunque di manipolare tutti i campioni con le precauzioni d'uso relative ai prodotti potenzialmente infettivi.

Conservanti

Il kit contiene azide sodica come conservante. La presenza di conservanti nei reattivi rende gli stessi potenzialmente tossici e 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.

Materiale Radioattivo

Il tracciante contiene materiale radioattivo.

RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

I pazienti non richiedono una preparazione specifica. 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 altera l'accuratezza dell'analisi.

Evitare i campioni visibilmente emolizzati, lipemici e torbidi. I campioni sono stabili fino a 48 ore in frigorifero, per tempi più lunghi congelare ad almeno -20°C.

Evitare di congelare e scongelare più volte i campioni. Dopo lo scongelamento, verificare l'assenza di flocculazioni, e mescolare per inversione immediatamente prima dell'analisi. Campioni torbidi o flocculati vanno centrifugati prima dell'uso.

MATERIALE RICHIESTO MA NON COMPRESO NEL KIT

- * Acqua distillata o deionizzata
- * Pipette di precisione
- * Provette in plastica 12x75 mm
- * Pipette a ripetizione
- * Contaminuti
- * Agitatore vortex
- * Agitatore a rulli
- * ortaprovette magnetici
- * Carta assorbente
- * Contatore gamma

NOTE PROCEDURALI

Portare tutti i reagenti ed i campioni a temperatura ambiente (20-25°C) e miscelare dolcemente per inversione prima dell'uso. Si raccomanda di operare in duplicato. L'eventuale contaminazione dei reattivi potrebbe determinare una riduzione delle performance del metodo.

La curva di calibrazione deve essere ripetuta ad ogni determinazione. [Σ il superiore calibratori, di essere diluito nello zero].

I vari passaggi della metodica devono essere eseguiti in successione evitando interruzioni. E' consigliabile non mescolare reattivi provenienti da lotti diversi. Il contatore gamma e le pipette devono essere opportunamente tarati prima dell'utilizzo.

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

Calibratori e controlli

Per ricostituire i calibratori ed i controlli liofili aggiungere il volume di acqua deionizzata indicato sull'etichetta di ciascun flacone. Lasciar riposare i flaconi sino al completo scioglimento del liofilo (almeno 30 minuti) e poi miscelare delicatamente per inversione. L'esatta concentrazione dei calibratori è determinata lotto per lotto ed è riportata su un foglio a parte all'interno del kit. Dopo la ricostituzione i calibratori vanno conservati a -20°C.

Protocollo operativo di

Diluizione

Calibratore A

Concentrazione 0 nmol/L

Diluire il calibratore A 1 a 4 con acqua deionizzata. Se il calibratore A si fosse cristallizzato, scaldare a 37°C. Il calibratore A può essere utilizzato anche come diluente per i campioni ed è stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservato a 2-8°C.

Preparazione dei campioni

I campioni dei pazienti (non i calibratori e i controlli) devono essere diluiti 1 a 200.

- 1) Etichettare le provette per le diluizioni (una per campione)
- 2) Pipettare 10 μ L di campioni ed aggiungere 1.99 mL di Calibratore A usato come diluente. Miscelare su vortex.

Reagente di Separazione

Miscelare accuratamente su un agitatore a rulli prima dell'uso.

Protocollo

1. Allestire ed etichettare, in doppio, le provette necessarie in base al numero di test da eseguire. Includere anche l'attività totale (TC), l'attività aspecifica (NSB), calibratori, campioni e controlli.
2. Pipettare 200 μ L di Calibratore A in doppio nelle provette siglate come NSB
3. Pipettare 100 μ L campione (calibratore, controllo o siero prediluito) in doppio nelle provette appropriate.

4. Pipettare 100µL di antisiero ALS (blu) in tutte le provette eccetto quelle siglate con TC e NSB.

5. Pipettare 100µL di tracciante ALS (rosso) in tutte le provette.

6. Miscelare su vortex delicatamente ed incubare tutta la notte (16-24 ore) senza agitazione ed a temperatura ambiente (20-25°C). Tutte le provette devono presentare una colorazione violacea, ad eccezione di quelle NSB e TC.

7. Al termine dell'incubazione pipettare 250µL di Reagente di Separazione ben mescolato in tutte le provette ad eccezione di quelle etichettate come TC. Miscelare su vortex. Escludendo le provette TC incubare tutte le altre per 15 minuti senza agitazione ed a temperatura ambiente (20-25°C).

8.

a) Posizionare le provette nei rack di separazione magnetica ed assicurarsi che tutte le provette siano in contatto con la piastra magnetica, per almeno 2 minuti.

Questo passaggio consente di separare gli anticorpi marcati da quelli non legati.
b) Dopo la separazione non rimuovere i rack dalla piattaforma magnetica. Decantare il supernatante e mantenere capovolta la piattaforma magnetica per permettere alle provette di sgocciolare sulla carta assorbente al fine di rimuovere tutti i residui di supernatante.

9. Contare la radioattività per la durata di un minuto in contatore gamma. Registrare i colpi per minuto per ciascuna provetta. Prolungando il conteggio per tempi più lunghi si riduce l'errore statistico di conteggio.

10. Calcolare i risultati.

CALCOLO DEI RISULTATI

In assenza di elaborazione automatica dei risultati il calcolo può essere effettuato a mano. I calibratori sono previsti per diluizioni del campione di 1 a 200.

- Determinare l'attività media (cpm) per ogni coppia di provette del duplicato.
- Tracciare la curva di calibrazione su carta semilogaritmica usando il metodo sotto riportato.

Usare la seguente formula per calcolare la "percentuale di attività" legata sull'attività totale" (%B/T):

$$\%B/B_0 = \frac{[\text{cpm}(\text{campione}) - \text{cpm}(\text{NSB})] \times 100}{[\text{cpm}(\text{Calibratore A}) - \text{cpm}(\text{NSB})]}$$

Graficare %B/B₀ sull'asse y, contro le concentrazioni assegnate ai calibratori sull'asse x.

- Leggere i valori dei campioni direttamente dalla curva di calibrazione esprimendoli in nmol/L.

ESEMPIO DI CALCOLI

ID	cpm medie	%B/B ₀	ALS (nmol/L)
Attività totale	24059		
NSB	373		
0	11622	100.0	
10	10010	85.7	
30	8349	70.9	
100	5107	42.1	
300	2665	20.4	
1000	1276	8.0	
controllo 1	7130	63.4	49.0
controllo 2	3516	27.9	196.0
campione 1	5122	42.2	102.0

CALIBRAZIONE

I calibratori forniti nel kit sono calibrati contro ALS altamente purificato (peso molecolare 63,300, determinato mediante analisi degli aminoacidi) ed espressi in nmol/L.

Per esprimere i risultati nell'unità di misura tradizionale µg/mL è necessario utilizzare il seguente fattore di conversione:

$$1.0 \mu\text{g/mL} = 15.8 \text{ nmol/L ALS}$$

LIMITAZIONI

Campioni di siero che presentano un'evidente emolisi, un elevato grado di lipemia e torbidità potrebbero portare ad un'alterazione dei risultati. Campioni che contengono un'apprezzabile dose di radioattività di fondo devono essere scartati. Misurare preliminarmente la radioattività di fondo nei campioni sospetti, ed in caso di positività sospendere l'analisi fino al decadimento della radioattività, o ripetere il prelievo.

VALORI ATTESI

Si raccomanda che ciascun laboratorio stabilisca i propri valori di riferimento su un campione rappresentativo della popolazione. Il range di riferimento che segue è stato ottenuto dall'analisi di campioni di siero provenienti da individui sani e viene fornito unicamente come guida:

Età (anni)	n	Media	SD	Mediano	5th Percentile	95th Percentile
(Maschi & Femmine)						
0	30	80.2	62.4	72.4	17.7	179.0
1 - 3	45	103.0	58.1	103.0	33.6	171.0
4 - 6	34	123.0	67.1	133.0	6.1	240.0
7 - 9	43	173.0	107.0	166.0	77.2	297.0
10 - 12	40	222.0	150.0	241.0	117.0	309.0
13 - 15	54	261.0	140.0	267.0	132.0	350.0
16 - 18	27	291.0	109.0	296.0	200.0	369.0
19 - 30	104	223.0	96.7	226.0	130.0	301.0
31 - 40	55	211.0	75.1	208.0	114.0	296.0
41 - 50	76	203.0	65.2	208.0	109.0	279.0
51 - 60	57	182.0	58.9	178.0	88.1	259.0
61 +	18	172.0	54.6	171.0	87.1	241.0

PRESTAZIONI CARATTERISTICHE

Precisione entro la serie

Campione	n	media ± 2SD (nmol/L)	%CV
A	22	26.1 ± 1.4	5.0
B	22	48.5 ± 2.6	5.4
C	22	207.0 ± 5.8	2.8
D	22	488.0 ± 20.0	4.1

Precisione fra le serie

Campione	n*	media ± 2SD (nmol/L)	%CV
E	39	50.6 ± 2.1	4.2
F	39	104.0 ± 3.6	3.5
G	39	176.0 ± 6.9	3.9
H	39	208.0 ± 8.2	3.9
I	39	344.0 ± 16.7	4.9

* in duplicato

Specificità

Analita	Concentrazione misurata	Risultati apparenti di ALS (nmol/L)
IGFBP-1	1000 ng/mL	non rilevabile
IGFBP-2	1000 ng/mL	non rilevabile
IGFBP-3	100 µg/mL	non rilevabile
IGF-I	4000 ng/mL	non rilevabile
IGF-II	4000 ng/mL	non rilevabile

Accuratezza

Il recupero è stato calcolato dosando i valori prima e dopo l'aggiunta di un analita esogeno.

Campioni	ALS (nmol/L) Osservati	ALS (nmol/L) Attesi	%Recupero
1	57.6	55.4	104.0
2	75.3	73.8	102.0
3	296.0	292.0	101.3
4	580.0	568.0	102.1

Diluizioni

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

Campioni	ALS (nmol/L) Osservati	ALS (nmol/L) Attesi	%Recupero
Tal quale	446.0		
1/2	242.0	223.0	109.0
1/4	116.0	112.0	104.0
1/8	59.1	55.8	106.0
1/16	25.9	27.9	92.8

Sensibilità

La sensibilità, definita come quella concentrazione di analita che corrisponde a un segnale strumentale misurato (cpm) il quale disti due deviazioni standard dalla media del segnale strumentale ottenuto misurando in 9 diverse serie i cpm del calibratore zero, è tipicamente inferiore a 4 nmol/L. Correggendola per il fattore di diluizione, la sensibilità effettiva nei sieri dei pazienti è di 0.02 nmol/L di ALS.

Interferenze

Non è stata osservata interferenza col recupero analitico 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 ALS RIA 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 un completo servizio di assistenza tecnica al numero +61 (0) 2 9517 1966 o al Numero verde 1800 251 138.