



BIOCLONE

KIT IRMA SUBUNITÀ βhCG LIBERA

REF 20 224100

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 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



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 IRMA SUBUNITÀ βhCG LIBERA è stato creato per la misurazione quantitativa diagnostica *in vitro* della subunità βhCG libera nel siero o nel plasma.

PRINCIPI DELL'IRMA

L'IRMA è un test immunoradiometrico a doppio anticorpo.

L'antigene del campione si lega (tecnica "sandwich") sia all'anticorpo tracciante marcato con iodio 125 (¹²⁵I) sia all'anticorpo legato alle particelle di polistirene magnetizzabile (Fase solida). Dopo l'incubazione il "sandwich" risultante è lasciato sedimentare, versato e lavato per rimuovere il tracciante radioattivo rimasto non legato. Le provette contenenti il "sandwich" sedimentato sono, poi, misurate in 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 - 100 test. Il kit e tutti i suoi componenti, chiusi o avviati, devono essere conservati a 2-8°C fino alle date di scadenza indicate.

Subunità βhCG libera:

Tracciante

1 flacone REF # BCII

27 mL di anticorpo anti-βhCG libero marcato con ¹²⁵I (10μCi) in tampone BSA PBS contenente siero animale non immune e un colorante arancione. Contiene sodio azide, 0.1% p/v. Pronto per l'uso.

Subunità βhCG libera:

Fase solida

1 flacone REF # BCA1

27 mL contenenti anticorpo anti-βhCG libero legato a particelle di polistirene magnetizzabile in tampone BSA PBS e un colorante blu. Contiene sodio azide, 0.1% p/v.

Rispondere con delicatezza prima dell'uso.

Concentrato di lavaggio

1 flacone REF # CGW1

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

Subunità βhCG libera:

Calibratori

7 flaconi REF # BCS1-7

2.0 mL nel Calibratore A e 1.0 mL nei Calibratori B-G, ognuno in siero umano. Contiene sodio azide, 0.1% p/v. Liofilizzato.

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 per la sicurezza di laboratorio locali o nazionali.

Campioni e calibratori

Il materiale originale dei calibratori 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 e 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 sodio azide come conservante. Siccome i reagenti contengono un conservante potenzialmente tossico, bisogna prestare attenzione, maneggiandoli, ad evitare ingestione o contatto con la cute. Il sodio azide può reagire con il piombo e il rame eventualmente presenti nelle tubature formando azoturi metallici, potenzialmente esplosivi.

Materiale radioattivo

Il tracciante contiene materiale radioattivo.

RACCOLTA E TRATTAMENTO 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 gli anticoagulanti eparina o EDTA possono essere impiegati senza compromettere l'accuratezza del test.

Evitare i campioni visibilmente emolizzati, lipemici 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. Evitare di 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 monouso di plastica per analisi 12 x 75 mm
- * Pipette di precisione
- * Pipette a ripetizione
- * Timer
- * Agitatore Vortex
- * Bagno d'acqua (37°C ± 2°C)
- * Rack magnetici o centrifuga refrigerata capace 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 dell'uso.

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

Si raccomanda di operare in duplicato.

La contaminazione dei reagenti porta a prestazioni scadenti. Si deve realizzare una curva di calibrazione per ogni test.

I campioni con concentrazioni presumibilmente superiori al valore del calibratore più alto devono essere diluiti con il 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 tarare 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, in ogni test vanno inseriti campioni di controllo. Per approvare il test, i valori di controllo devono situarsi all'interno dei range di laboratorio.

PROCEDURA OPERATIVA

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

Per ricostituire i calibratori liofilici, aggiungere il volume di acqua deionizzata indicato sull'etichetta di ogni flacone. Lasciar riposare i flaconi fino alla completa dissoluzione del liofilo (almeno 30 minuti) e poi mescolarli 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 devono essere conservati a -20°C.

Protocollo

1. Operando in duplicato, disporre e contrassegnare un numero di provette adeguato al numero di test da effettuare. Includere i Conteggi Totali (TC), i calibratori, i controlli e i campioni dei pazienti.
2. Pipettare 100 μL di Campione (calibratore, controllo, campioni) in duplicato nelle provette appropriate.
3. Rispondere Fase solida della subunità βhCG libera (blu-verde) mediante turbino e molteplici inversioni del contenuto della bottiglia fino a che non sia più visibile alcun sedimento sul fondo - non agitare vigorosamente questo reagente.

4. Pipettare 250 µL di Traccianti della subunità βhCG libera (giallo) in tutte le provette. Mettere da parte le provette TC.
5. Pipettare 250 µL di Fase solida della subunità βhCG libera (blu-verde) in tutte le provette, tranne in quelle TC.
6. Agitare le provette con delicatezza, quindi incubarle per 2 ore a 37°C.
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 magnetica. Lavare le provette aggiungendo in tutte 500 µL di soluzione di lavaggio. Agitare, lasciare sedimentare su base magnetica, svuotare e asciugare come sopra.

OPPURE

- B. *Centrifugazione*
- a) Centrifugare tutte le provette per 5 minuti a 1500 x g in una centrifuga refrigerata (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, versare il sopranatante 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.

A. Separazione Magnetica

- a) Porre le provette nel rack di separazione magnetica e assicurarsi che tutte le provette siano in contatto con la base magnetica. Lasciarle 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 base magnetica. Eliminare il sopranatante invertendo le provette (senza togliere la base magnetizzata) e lasciandole scolare su carta assorbente per due minuti.

CALCOLO DEI RISULTATI

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

- Determinare il cpm (count per minute) medio per le provette duplicate.
- 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, 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	βhCG IU/L
TC	115249		
0	100	0.09	
0.45	256	0.22	
1.91	959	0.83	
4.84	2596	2.25	
14.7	9567	8.30	
40.8	29380	25.49	
154	69158	60.01	
Campione 1	805	0.70	1.61
Campione 2	4546	3.94	7.87

CALIBRAZIONE

I calibratori forniti in questo kit sono espressi in IU/L e calibrati per riferimento contro lo standard 1st IRP per il βhCG 75/551.

LIMITAZIONI

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

I campioni che contengono una significativa radioattività di fondo non devono essere usati. Si deve controllare la radioattività di qualsiasi campione sospetto prima di effettuare l'analisi e, in caso di presenza, il campione deve 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:

100 donne non in gravidanza e uomini <0,6 IU/L

CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE

Precisione entro la serie

Campione	n	Media ± 2SD (IU/L)	%CV
A	10	7.98 ± 0.12	0.7
B	10	17.06 ± 0.63	1.8

Precisione fra le serie

Campione	n *	Media ± 2SD (IU/L)	%CV
C	50	1.62 ± 0.19	5.9
D	50	8.02 ± 0.33	2.0
E	50	17.15 ± 1.12	3.3

* in duplicato

Specificità

Analita	Concentrazione misurata	βhCG apparente (IU/L) risultati
LH	250 IU/L	0.25
FSH	250 IU/L	non rilevabile
TSH	250 mIU/L	non rilevabile

Accuratezza

Il recupero è stato calcolato testando prima e dopo l'aggiunta di analita esogeno (x). 50 µL di campione X sono stati aggiunti a 50 µL di ogni calibratore.

Campione	βhCG (IU/L)		Recupero %
	Misurato	Atteso	
x (100 µL)	22.6		
x (50 µL) + 50 µL	0	11.4	100.9
	0.5	11.7	100.9
	2.5	12.5	99.2
	5.0	14.0	101.4
	25	22.2	93.3
	100	60.4	98.5

Diluizione

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

Campione	βhCG (IU/L) Misurato	βhCG (IU/L) Atteso	% Recupero
Non diluito	87.4		
1/2	44.8	43.7	102.5
1/4	22.2	21.9	101.4
1/8	11.5	10.9	105.5

Effetto gancio ad alte dosi

A causa dell'effetto Hook (gancio) ad alti dosi, caratteristico dei test immunoradiometrici, i campioni con valori superiori a 10,000 IU/L possono produrre risultati aberranti, inferiori a quelli del calibratore più alto del kit. Questi campioni devono essere diluiti con il calibratore zero e ritestati.

Sensibilità

La sensibilità del test normalmente è inferiore a < 0.3 IU/L. Si definisce "sensibilità" la concentrazione di analita che corrisponde a quella variabile dose-risposta (cpm) che dista due deviazioni standard dalla media della variabile dose-risposta ottenuta misurando in tre diverse serie 20 replicati del calibratore zero.

Interferenze

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

INFORMAZIONI PER LE ORDINAZIONI

Il FREE βhCG SUBUNIT IRMA 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.: KBCCI Ed.7

Data di revisione: 26 Novembre 2009