



BIOCLONE

ELEGANCE

# Chlamydia trachomatis

## IgG ELISA KIT

REF 40 CTG0096

96

ITALIANO



0843

### GARANZIA

Il produttore non fa alcuna esplicita garanzia per il kit diagnostico tranne che per la sua capacità di verificare la presenza dell'IgG per *Chlamydia trachomatis* nel siero umano, a condizione che si seguano le istruzioni di fabbrica. 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 produttore declina ogni tipo di garanzia implicita di commerciabilità, convenienza d'uso o utilità presunta a qualsiasi altro titolo. Qualsiasi danno dovuto a un funzionamento del kit diagnostico non conforme alle istruzioni è limitato 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 a proprietà, infortuni o perdite di natura economica che siano causati da tali 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

EC REP Hitachi Chemical Diagnostics Inc.

Hitachi Europe Limited, Whitebrook Park, Lower Cookham Road Maidenhead, Berkshire, SL6 8YA, UK. Phone: +44 1628 585 591

### IMPIEGO PREVISTO

**ELEGANCE Chlamydia trachomatis** IgG ELISA è stato progettato per la misura diagnostica *in vitro* dell'IgG anti-*Chlamydia trachomatis* nello screening del siero umano.

### PRINCIPI DI ELEGANCE ELISA

L'ELISA *Chlamydia trachomatis* misura l'anti-*Chlamydia trachomatis* nel siero umano con un metodo di analisi immunoassorbente ad enzima legato. L'antigene alla *Chlamydia trachomatis* che utilizza corpi elementari a partire dalla specie L<sub>2</sub> della *Chlamydia trachomatis* si lega al micropozzetti e forma un complesso con l'anti-*Chlamydia trachomatis* nel campione. Dopo un lavaggio, tutti gli anticorpi legati formano ulteriori complessi con gli anticorpi policlonali anti-umani della *Chlamydia trachomatis* marcati con fosfatasi alcalina. Una soluzione di substrato, contenente p-NPP, reagisce con la fosfatasi alcalina producendo una certa colorazione a correlazione alla presenza di anti-*Chlamydia trachomatis* nel campione. Il risultato è determinato calcolando per il campione un indice a partire dalla densità ottica (OD) a relazione al materiale di controllo.

### REAGENTI/ELEGANCE FORNITI, STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Il kit consente di effettuare 96 prove. Il kit e tutti i suoi componenti, nuovi o già avviati, vanno conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8°C fino alla rispettiva data di scadenza.

#### Chlamydia trachomatis: Micropozzetti Rivestiti 96 pozzetti REF # CTA96

Struttura contenente micropozzetti rivestiti con complessi a membrana esterna altamente purificati e specifici per la *Chlamydia trachomatis*. Pronta all'uso.

#### Chlamydia trachomatis IgG: Reagente Anticorpo

**1 fiala REF # CTGB96**  
Anticorpo policlonale IgG antiumano marcato di fosfatasi alcalina da 10.5 mL in soluzione tamponata contenente albumina di siero bovino. Contiene sodiazite (NaN<sub>3</sub>), 0.1% w/v. Pronta all'uso.

#### Chlamydia:

##### Controllo Negativo

**1 fiala REF # CNI**  
Soluzione diluente tamponata da 1.4 mL. Contiene NaN<sub>3</sub>, 0.1% w/v. Pronta all'uso.

##### Chlamydia trachomatis IgG: Controllo Positivo

**1 fiala REF # CTGPI**  
1.4 mL di IgG anti-*Chlamydia trachomatis* in soluzione diluente di siero tamponata. Contiene NaN<sub>3</sub>, 0.1% w/v. Pronta all'uso.

#### Chlamydia:

##### Soluzione di Stop

**1 fiala REF # CSOH96**  
Soluzione di idrossido di sodio da 5 mL, al 12% w/v. Pronta all'uso.

#### Chlamydia:

##### Concentrato di Lavaggio

**1 fiala REF # CW96**  
50 mL di soluzione di lavaggio concentrata x10. Contiene NaN<sub>3</sub>, 1% w/v. Deve essere diluita prima dell'uso.

#### Chlamydia:

##### Soluzione di Substrato

**1 fiala REF # CSL96**  
10.5 mL di soluzione di substrato cromogenica al fosfato di p-nitrofenolo (p-NPP). Pronta all'uso.

### PRECAUZIONI E AVVERTENZE PER GLI UTILIZZATORI

Il maneggio, l'utilizzo, la conservazione e lo smaltimento di provini e parti di kit devono essere conformi alle normative o procedure di laboratorio di sicurezza locali o nazionali.

#### Provini e controlli

Il materiale di controllo originale è stato testato, con metodo accreditato e approvato, per la presenza dell'antigene superficiale all'epatite B, dell'anticorpo all'epatite C e dell'anticorpo all'HIV - 1/2 (AIDS) ed è stato osservato che è totalmente non reattivo. Ad ogni modo si raccomanda di maneggiare tutti i campioni con le stesse precauzioni impiegate con materiali in grado di trasmettere malattie infettive.

#### Micropozzetti Rivestiti

La preparazione dell'antigene finale per i micropozzetti ha reso il materiale incapace di trasmettere infezioni.

Tuttavia, come con qualsiasi materiale biologico di questo tipo, i micropozzetti dovrebbero essere maneggiati come se fossero capaci di trasmettere malattie infettive.

#### Conservanti

Il kit contiene sodiazite come conservante. Poiché i reagenti contengono un conservante potenzialmente tossico, occorre fare attenzione in fase di manipolazione al fine di evitarne l'ingestione o il contatto con la cute. La sodiazite può reagire con il piombo e il rame nella piombatura e generare azoturi potenzialmente esplosivi.

#### Soluzione di Stop e Substrato

Evitare qualsiasi contatto con la cute.

### RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

Non è richiesta alcuna preparazione particolare per il paziente. I campioni di siero dovrebbero essere raccolti in modo tale da poter essere testati in laboratorio. Evitare campioni con eccesso emolitico o lipemico, oppure campioni torbidi. I campioni possono essere conservati a una temperatura tra 2 e 8°C per un massimo di 48 ore. I campioni mantenuti per più tempo dovrebbero essere

conservati a una temperatura non superiore a -20°C. Non congelare e scongelare i campioni ripetutamente. Nei campioni scongelati dovrebbe essere verificata per verificare la presenza di materia flocculenta e miscelati per capovolgimento appena prima della prova. Campioni torbidi o contenenti particolati dovrebbero essere centrifugati prima dell'uso.

### MATERIALE MACCHINARI RICHIESTI E NON FORNITI

- \* Acqua distillata o deionizzata
- \* Pipette di precisione
- \* Pipetta di ripetizione
- \* Cilindro di misurazione
- \* Tessuto assorbente (che non sfilaccia)
- \* Incubatrice (37°C)
- \* Temporizzatore
- \* Agitatore di piastre Microtitre
- \* Lavapiastre Microtitre
- \* Lettore di micropiastre da 405 nm
- \* Miscelatore Vortex
- \* Tubi di diluizione

### NOTE PROCEDURALI

Portare tutti i reagenti e campioni a temperatura ambiente (20-25°C) e miscelare gentilmente per inversione prima dell'uso. Si raccomanda di operare in duplicato. La contaminazione dei reagenti produce prestazioni mediocri. Ogni analisi dovrebbe essere accompagnata da controlli. Tutti i punti procedurali di un'analisi dovrebbero essere eseguiti senza interruzione. I reagenti sono abbinati per kit pertanto reagenti appartenenti a lotti diversi non vanno mescolati tra di loro. Il fotometro, l'incubatrice e tutte le pipette utilizzate devono essere appropriatamente calibrate prima dell'uso.

#### Lavaggio

L'efficienza dell'operazione di lavaggio è essenziale per ottenere una buona precisione. I micropozzetti vengono lavati attraverso un lavapiastre automatico. Evitare il traboccamento da un pozzetto ad un altro.

### PROCEDURA DI TEST

#### Preparazione dei reagenti Soluzione di Lavaggio

Diluire 1 a 10 il concentrato di lavaggio con acqua deionizzata. Se il Concentrato di Lavaggio *Chlamydia* ha cristallizzato, riscaldarlo a 37°C. La soluzione di lavaggio è utilizzata anche come diluente per i campioni. La soluzione di lavaggio può essere conservata a temperatura ambiente (20-25°C) per 1 mese.

#### Preparazione del campione

Immediatamente prima dell'uso, portare i campioni a temperatura ambiente (20-25°C) e mescolarli a fondo centrifugandoli. Utilizzando un tubo di diluizione, pipettare:

- 10 µL di campione e aggiungere 200 µL di soluzione di lavaggio. Centrifugare delicatamente; quindi

- b. 20 µL di campione diluito in un nuovo tubo e aggiungere 180 µL di soluzione di lavaggio. Ricentrifugare delicatamente.

Questo comporta un fattore finale di diluizione di 1 a 210, e questo campione diluito finale verrà usato per la prova. Non diluire i campioni di controllo.

#### Protocollo

1. Disporre i micropozzetti nel telaio a seconda del numero di test desiderati. Riporre e conservare i pozzetti inutilizzati a 2-8°C.

2. Pipettare nei rispettivi pozzetti 100 µL di:

a. Soluzione di Lavaggio (1 pozzetto - 'blank')

b. Controllo Negativo *Chlamydia* (2 pozzetti)

c. Controllo Positivo *Chlamydia trachomatis* IgG (2 pozzetti)

d. Campioni diluiti (nei pozzetti rimanenti).

3. Coprire i micropozzetti con il coperchio e incubare per 60 minuti in maniera stazionaria a 37°C.

4. Dopo l'incubazione, lavare i micropozzetti. Aspirare il liquido e risciacquare ciascun pozzetto 3 volte con 300 µL di soluzione di lavaggio. Dopo il lavaggio finale, capovolgere i micropozzetti e tamponare con fermezza con tessuto assorbente per rimuovere completamente il campione di

lavaggio. Assicuratevi di non lasciare bolle d'aria nei pozzetti.

5. Pipettare 100 µL di Reagente Anticorpo *Chlamydia trachomatis* IgG in tutti i pozzetti.

6. Coprire i micropozzetti con il coperchio e incubare per 60 minuti in maniera stazionaria a 37°C.

7. Dopo l'incubazione ripetere il processo di lavaggio.

8. Pipettare 100 µL di Soluzione di Substrato *Chlamydia* in tutti i pozzetti. La durata del processo di incubazione è misurata a partire dal riempimento del primo pozzetto con la soluzione di substrato.

9. Coprire i micropozzetti con il coperchio e incubare per 10 minuti in maniera stazionaria a temperatura ambiente (20-25°C).

10. Pipettare 25 µL di Soluzione di Stop di *Chlamydia* in tutti i pozzetti nella stessa sequenza temporale della soluzione di substrato e mescolare delicatamente per 10 secondi su un agitatore di piastre.

11. Effettuare una lettura di endpoint a 405 nm ed elaborare i dati come descritto nel manuale d'uso del lettore di microplate. (Corretto per il campione 'blank')

#### LIMITAZIONI

Per ottenere test validi, dovrebbero essere seguite le linee guida indicate:

1. Sensibilità: Valori OD osservati possono variare ampiamente con differenti lettori di piastre e condizioni d'uso. E' importante che il Controllo Positivo abbia un valore OD notevolmente più alto del Valore di Cut-Off. Il valore di OD osservato per il Controllo Positivo in fase di test da Bioclone è compreso nell'intervallo 0.5 - 1.5. Il valore di OD del Controllo Negativo osservato in fase di test da Bioclone è inferiore a 0.2; questo valore può crescere leggermente nel tempo. L'OD media corretta del Controllo Negativo (N) deve essere  $\leq 0.05$ .
2. Specificità: I risultati del Controllo Negativo dovrebbero mostrare un indice campione negativo. I risultati del Controllo Positivo dovrebbero mostrare un indice campione positivo.
3. Riproducibilità: Per più di 10 risultati del Controllo Positivo all'interno di un test, il coefficiente di variazione percentuale (%CV) dovrebbe essere  $\leq 20\%$ .

#### CARATTERISTICHE DI ESECUZIONE

##### Specificità

Nei topi, anticorpi murini allevati con *Chlamydia pneumoniae* hanno mostrato il 3% di cross-reattività quando testati contro l'antigene purificato *Chlamydia trachomatis*. Anticorpi murini allevati con *Chlamydia psittaci* hanno mostrato una cross-reattività del 25% quando testati contro l'antigene purificato *Chlamydia trachomatis*; tale valore è accettabile considerando la bassa percentuale di infezioni di *Chlamydia psittaci* nella popolazione generale.

##### Interferenza

Non è stato osservato alcun effetto dalle sostanze seguenti, utilizzate fino ai livelli indicati:

Bilirubina indiretta 25 mg/dL Fattore reumatoide 1000 UI/mL  
Bilirubina diretta 25 mg/dL Emoglobina 500 mg/dL

##### Range campione (Adulti; > 16 anni)

Da un studio di adulti normali (n=221), il 95% della popolazione ad anticorpo negativo fornisce un una lettura OD nell'analisi  $\leq 0.115$  (si veda la figura 1 nel rapporto tecnico).

\* Tecnico breve disponibile su richiesta

#### CALCOLO E VALUTAZIONE DEI RISULTATI

Nota: Modificare tutti i valori in base al 'blank' sottraendo il valore OD del 'blank' dai valori di OD ottenuti.

I risultati vanno calcolati usando la seguente equazione;

$$I = \frac{(R \times S)}{[(R \times N) + (0.12 \times P)]}$$

I = Indice di campione

R = Valore di riferimento (valore mostrato sull'etichetta della fiala del Controllo Positivo; specifico dell'analita e del lotto)

S = OD medio corretto del campione\*

N = OD di Controllo Negativo medio corretto\* (-N  $\Rightarrow$  0)†

P = OD di Controllo Positivo medio corretto\*  
(\* corretto per sottrazione del valore di OD del 'blank')  
(† se N è negativo sostituirlo con zero)

#### Valutazione

Valutare i risultati rispetto alla tabella seguente. Dato che l'indice di campione può mostrare una percentuale del 10% di falso positivo, in tali casi il test dovrebbe essere ripetuto con nuovi campioni di siero dopo 7-10 giorni.

#### Interpretazione di tutti i risultati dei campioni

Indice campione	Risultato	
$\geq 1.10$	Positivo	+
0.90 - 1.09	Equivoco	=
$< 0.90$	Negativo	-

Notas: 1. Come per qualsiasi altra procedura diagnostica, i valori ottenuti con l'uso dei kit *ELEGANCE Chlamydia trachomatis* IgG ELISA forniscono dati che dovrebbero essere usati a complemento di altre informazioni a disposizione dei medici. La ripetizione dei test dovrebbe essere effettuata per controllare l'innalzamento dei livelli di anticorpi in tutti i casi di dubbio.

2. Valore di Cut-off =  $\left[ \frac{R \times N}{P} \right] + 0.12$

#### COME ORDINARE

*ELEGANCE Chlamydia trachomatis* IgG ELISA 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 offre una completa assistenza tecnica telefonando al +61 (0) 2 9517 1966 o al Numero verde 1800 251 138

NOTA: Questo kit è prodotto e venduto in tutto il mondo, ad eccezione del Giappone, da Bioclone Australia Pty Limited sotto licenza di Hitachi Chemical Co., Ltd. Alcuni dati contenuti in questo documento provengono dai risultati delle valutazioni del test HITAZYME prodotto da Hitachi Chemical Co., Ltd.

Documento n. KBCTGI Ed. 7 - Data di revisione: 4 Settembre 2006