



KIT IRMA IgE TOTALI

REF 20 IGE125
Σ 125

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.

rodotto 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 REF 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 IgE IRMA è stato sviluppato per la determinazione quantitativa diagnostica *in vitro* delle immunoglobuline E totali (IgE) presenti nel siero e nel plasma.

PRINCIPIO DEL KIT IRMA

L'IRMA è un sistema immunoradiometrico basato sulla tecnica del doppio anticorpo. Il campione è dapprima incubato a 37°C con un anticorpo monoclonale anti IgE umane legato a particelle di polistirene magnetizzate (fase solida).

Successivamente si aggiungono immunoglobuline policlonali di capra marcate con ¹²⁵I anti IgE umane, e si effettua una seconda incubazione a 37°C. Dopo l'incubazione la risultante struttura a "sandwich" è fatta sedimentare, decantata e lavata al fine di rimuovere gli anticorpi marcati con ¹²⁵I non legati. Le provette contenenti il complesso sandwich sedimentato sono poi analizzate usando un contatore gamma. La concentrazione dell'analita è direttamente proporzionale alla radioattività rimasta legata nella struttura a sandwich. Si traccia il grafico dell'attività dei calibratori e da tale curva si desume la concentrazione dei campioni.

REATTIVI FORNITI, STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Composizione del kit 125 tests
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.

IgE: Tracciante

1 flacone REF # IEI1
26 mL contenenti anti-IgE marcati con ¹²⁵I (≤13μCi) in tampone BSA PBS, siero animale non immune ed un colorante arancione. Contiene azide sodica, (NaN₃), 0.1% p/v. Pronto all'uso.

IgE: Fase solida

1 flacone REF # IEA1
26 mL contenenti anticorpi anti-IgE complessati con particelle di polistirene magnetizzabile in tampone BSA PBS. Contiene (NaN₃), 0.1% p/v. Risospendere delicatamente prima dell'uso.

Soluzione di Lavaggio Concentrata

1 flacone REF # HW1
10 mL di soluzione di lavaggio concentrata 15 volte. Contiene (NaN₃), 1.5% p/v. Diluire prima dell'uso.

IgE: Calibratori

7 flaconi REF # IES10
5.0 mL nel Calibratore 1 e 1.0 mL nei calibratori 2-7, ciascuno in siero equino. Contiene (NaN₃), 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 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 conservanti. La presenza di tali 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 anticoagulanti quali eparina o EDTA non alterano l'accuratezza dell'analisi.

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

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
- * Bagno termostatico (37°C ± 2°C)
- * Portaprovette magnetici o centrifuga refrigerata 1500 g
- * Carta assorbente
- * Contatore gamma

NOTE PROCEDURALI

Portare tutti i reagenti ed i campioni a temperatura ambiente (20-25°C) e mescolare dolcemente per inversione prima dell'uso. Non usare ancorette magnetiche per risospendere il reagente della fase solida. L'eventuale contaminazione dei reattivi potrebbe determinare una riduzione delle performance del metodo.

Si raccomanda di operare in duplicato. La curva di calibrazione deve essere ripetuta ad ogni

determinazione. I campioni per i quali si sospettano concentrazioni superiori al valore del calibratore più alto, devono essere diluiti prima dell'analisi con il calibratore 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 tarate prima dell'utilizzo.

LAVAGGI

L'efficienza della fase di lavaggio e' cruciale per garantire una buona precisione del metodo.

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 può essere conservata a temperatura ambiente (20-25°C) per 6 mesi.

Calibratori

Per ricostituire i calibratori liofilizzati aggiungere il volume di acqua deionizzata indicato su ciascun etichetta del 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

1. Allestire ed etichettare in doppio le provette necessarie per il test in base al numero di test da eseguire (campioni, controlli, calibratori e attività totale).
2. Pipettare 25 μL di campione (calibratore, controllo) in doppio nelle rispettive provette.
3. Risospendere IgE: fase solida mediante ripetute rotazioni e capovolgimenti del flacone, sino a far scomparire ogni traccia di sedimento sul fondo - evitando di scuotere esageratamente questo reagente.
4. Pipettare 200 μL di IgE: Fase Solida in tutte le provette eccetto che in quelle dell'attività totale.
5. Mescolare le provette su vortex con cautela ed incubare per 30 minuti a 37°C.
6. Pipettare 200 μL di Tracciante IgE (giallo) in tutte le provette. Accantonare le provette per l'attività totale.
7. Mescolare le provette su vortex con cautela ed incubare per 30 minuti a 37°C.

8. Separare i sandwich dal tracciante non legato tramite centrifugazione o mediante separazione magnetica.
- A. *Separazione magnetica*
- a) Posizionare le provette nei rack di separazione magnetica ed assicurarsi che tutte le provette siano in contatto con la piastra magnetica, per almeno 5 minuti. La precisione può essere migliorata portando il tempo di sedimentazione a 10 minuti.
- b) Dopo la separazione non rimuovere i rack dalla piastra magnetica. Decantare il supernatante e mantenere capovolta la piastra magnetica per permettere alle provette di sgocciolare sulla carta assorbente per 2 minuti.
- c) Rimuovere i rack dalla loro piastra magnetica. Lavare le provette con 500 µL di soluzione di lavaggio. Agitare su vortex, sedimentare su piastrina magnetica, decantare e lasciar scolare su carta assorbente come precedentemente indicato.
- Oppure
- B. *Centrifugazione*
- a) Centrifugare tutte le provette per 5 minuti a 1500 x g in una centrifuga refrigerata (4°C). decantare il supernatante e lasciar scolare le provette sulla carta assorbente per 2 minuti.
- b) Lavare le provette aggiungendo 500 µL di soluzione di lavaggio. Agitare su vortex, centrifugare, decantare ed asciugare come sopra.
9. Contare la radioattività per la durata di un minuto in contatore gamma. Registrare i colpi per minuto per ciascuna provetta.
10. Calcolare i risultati.

CALCOLO DEI RISULTATI

In assenza di elaborazione automatica dei risultati il calcolo può essere effettuato a mano.

- Determinare l'attività media (cpm) per ogni coppia di provette in duplicato.
- Tracciare la curva di calibrazione su carta semilogaritmica usando uno dei metodi sotto riportati.

Metodo 1

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

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

Graficare %B/T sull'asse y, contro le concentrazioni assegnate ai calibratori sull'asse x.

Metodo 2

Graficare il valore di cpm sull'asse y, contro le concentrazioni assegnate ai calibratori sull'asse x.

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

ESEMPIO DI CALCOLI

ID	cpm	% B/T	IgE kIU/L
Attività totale	118080		
0	126	0.11	
2	520	0.44	
5	1057	0.90	
20	3521	2.98	
100	12944	10.96	
500	28952	24.52	
1500	35566	30.12	
campione 1	10002	8.47	69.9
campione 2	16141	13.67	139.2

CALIBRAZIONE

I calibratori forniti nel kit sono calibrati ed espressi in kIU/L, per riferimento con la "2nd International Reference Preparation for IgE 75/502".

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 posporre l'analisi finché sia decaduta, 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: I livelli di IgE Totale sono stati determinati, usando il kit IRMA IgE TOTALI prodotto da Bioclone, sul siero 45 donatori sani della Croce Rossa, negativi per anamnesi allergica.

Media geometrica 32 kIU/L + 1SD = 105 kIU/L

95 % dei soggetti erano inferiori a 220 kIU/L.

PRESTAZIONI CARATTERISTICHE

Precisione entro la serie

Campione	n	media ± 2SD(kIU/L)	%CV
A	20	36.65 ± 0.73	2.2
B	20	173.60 ± 4.23	2.4
C	20	377.00 ± 11.54	3.1

Precisione fra le serie

Campione	n*	media ± 2SD(kIU/L)	% CV
A	13	27.9 ± 1.02	3.7
B	13	323.0 ± 19.20	5.9

* in duplicato

Specificità

Analita	concentrazione misurata	risultati apparenti delle IgE (kIU/L)
IgG	3.75 mg/ml	non rilevabile
IgA	0.29 mg/ml	non rilevabile
IgM	0.39 mg/ml	non rilevabile

Accuratezza

Il recupero è stato calcolato dosando i valori prima e dopo l'aggiunta di una frazione di siero avente contenuto x di IgE. In genere si aggiungevano 12.5 µL di tale siero x a 12.5 µL di ciascun calibratore.

Campioni	IgE (kIU/L) Osservati	IgE (kIU/L) attesi	recupero %
Siero X (25 µL)	287.4		
x (12.5 µL)+ 12.5 µL	0	139.9	143.7
	2	145.7	144.7
	5	147.9	146.2
	20	150.2	153.7
	100	201.7	193.7
	500	389.3	393.7
	1500	790.8	893.7

Diluizioni

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

Campione	IgE (kIU/L) Osservati	IgE (kIU/L) attesi	recupero %
Tal quale	448.8		
1/2	217.7	224.4	97
1/4	103.9	112.2	93
1/8	52.1	56.1	93
1/16	27.0	28.1	99

Effetto gancio ad alte dosi

Per le caratteristiche del test, che rendono possibile la presenza di effetto "gancio" (hook) alle dosi più alte, si possono determinare risultati aberranti in campioni con valori superiori a 11000 kIU/L. Questi campioni devono essere diluiti con il calibratore zero e ritestati.

Sensibilità

La sensibilità del test è tipicamente < 0.32 kIU/L.

La sensibilità è definita come quella concentrazione di analita che corrisponde a un segnale strumentale (cpm) il quale disti due deviazioni standard dalla media del segnale strumentale ottenuto misurando in tre diverse serie 10 replicati del calibratore zero.

Interferenze

Non è stata osservata interferenza col recupero analitico per concentrazioni di emoglobina superiori a 250 mg/dL, bilirubina superiore a 10 mg/dL, trigliceridi superiori a 970 mg/dL.

INFORMAZIONI PER GLI ORDINI

Il kit IgE 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

Bioclone fornisce un completo servizio di assistenza tecnica al numero +61 (0) 2 9517 1966 o al numero verde 1800 251 138.

PART No.: KBIEI Ed.6 Data di Revisione 1 Giugno 2006