

Immunodosaggio a fluorescenza per la misurazione quantitativa del cortisolo nel siero canino.

INTERESSE CLINICO

Il cortisolo viene secreto dalle ghiandole surrenali sotto il controllo dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. La misurazione del cortisolo nel sangue contribuisce allo screening e alla diagnosi dell'iperadrenocorticismo (sindrome di Cushing) e dell'ipoadrenocorticismo (morbo di Addison) nei cani.

PRINCIPIO

Speed Cortisol™ è un test immunocromatografico, quantitativo e rapido che consente di ottenere un dosaggio del cortisolo circolante mediante un'analisi a fluorescenza indotta da laser.

PRECAUZIONI E AVVERTENZE

CAMPIONE

- Utilizzare unicamente siero. Non utilizzare sangue intero o plasma.
 - Non è stata riscontrata nessuna interferenza con l'emolisi o l'iperlipemia.
 - Se il test non viene eseguito entro un'ora, trasferire il siero in una provetta asciutta.
- Siero:
- Conservazione dei campioni fino a 7 giorni : conservare il siero in frigorifero da +2°C a +8°C.
 - Oltre le 7 giorni, conservare il siero in congelatore (-20°C).
 - I campioni devono essere a temperatura ambiente (da 18°C a 27°C) e centrifugati prima analisi.
 - La presenza di filamenti di fibrina nel campione potrebbe causare risultati scorretti, per l'ostruzione della pipetta e per la riduzione del volume del campione aspirato. In tal caso, centrifugare nuovamente il campione.

UTILIZZO CORRETTO DELLA PIPETTA

- Sempre mantenere la pipetta, la provetta con il campione e i reagenti in posizione verticale per garantire un volume corretto di campionamento.
- Utilizzare un nuovo puntale monouso per pipetta per ogni test.
- Tenere premuto lo stantuffo della pipetta e inserire il puntale nel campione, prestando attenzione a non toccare le pareti della provetta. Rilasciare lentamente lo stantuffo della pipetta mantenendo l'estremità del puntale immersa nel campione.
- Rimuovere la pipetta dalla provetta del campione e verificare che non siano presenti bolle d'aria nel puntale. Se sono presenti bolle d'aria, scartare il campione e ripetere il campionamento.

MISCELA DI REAGENTE E CAMPIONE

- Per ottenere una migrazione corretta del campione, mettere la cella test su una superficie orizzontale.
- La provetta con il reagente ne contiene una quantità standard. Qualsiasi modifica di questa quantità può causare risultati di dosaggio errati.
- Non conservare la miscela per successive analisi.

RACCOMANDAZIONI

- Prima di usare il primo test di ogni scatola, memorizzare il chip di calibrazione del lotto nello Speed Reader™.
- La data di scadenza è indicata sul kit e su ogni contenente i test.
- Conservare i reagenti e i test tra +2°C e +8°C.
- Il campione e tutti i materiali utilizzati nella procedura del test devono essere considerati potenzialmente infetti e devono essere smaltiti conformemente alle normative locali.
- Utilizzare dispositivi di protezione adeguati e puliti (guanti e abito).
- In caso di contatto dei reagenti con la pelle o con gli occhi, risciacquare immediatamente con acqua pulita e consultare un medico.

PROTOCOLLO OPERATIVO

Lo Speed Cortisol™ non può essere interpretato visivamente e deve essere letto unicamente mediante un analizzatore Speed Reader™. Per istruzioni complete, fare riferimento alla guida dell'operatore dell'analizzatore Speed Reader™.

- **Non mescolare dispositivi per test, provette di reagenti e chip per la calibrazione provenienti da lotti diversi.**

- Lasciare che il reagente e la cella test raggiungano temperatura ambiente (da 18°C a 27°C) per almeno 10 minuti prima dell'uso.

MATERIALI PER CIASCUN TEST

1 cella test, 1 provetta di reagente, 1 tappo contagocce, 1 puntale per pipetta e pipetta da 50 µL

PREPARAZIONE DELLO SPEED READER™

- Impostare i parametri dell'analizzatore Speed Reader™ come descritto nella guida dell'operatore.

TRASFERIMENTO DEL CAMPIONE

- Utilizzando la punta del contagocce, perforare il foglio di alluminio per aprire la provetta del reagente.
- Collocare un puntale monouso nuovo sulla pipetta.
- Trasferire 50 µL di campione nella provetta del reagente, seguendo le istruzioni per un utilizzo corretto della pipetta. Prestare attenzione a non toccare le pareti della provetta del reagente con il

puntale della pipetta.

- **Sigillare con cura la provetta del reagente con il tappo contagocce.**

- **Mescolare delicatamente** il contenuto capovolgendo la provetta **almeno 5 volte**. NON AGITARE.

- Lasciare riposare la miscela di campione/reagente per **5 minuti**. È importante rispettare esattamente i tempi di questa fase. Dopo 5 minuti, usare la miscela di campione/reagente immediatamente.

APPLICAZIONE DEL CAMPIONE

- Rimuovere il coperchio di plastica dal tappo contagocce e gettare le prime 2 gocce della miscela, per sciacquare lo spazio morto.
- **Aggiungere 2 gocce di miscela nel pozzetto del campione** della cella test.

LETTURA

- Quando appare l'istruzione dell'analizzatore, inserire la cella test nel portacatture dello Speed Reader™ nella direzione indicata dalla freccia (prima di tutto il pozzetto del campione) e seguire quindi le istruzioni su schermo.
- Leggere i risultati sulla schermata.

INTERPRETAZIONE

Le concentrazioni di cortisolo sono misurate in nmol/L – Range dinamico: da 30 nmol/L a 800 nmol/L.

Valori di riferimento:

nmol/L	TEST DI STIMOLAZIONE CON ACTH				
Pre-ACTH	< 55		55 - 165		
Post-ACTH	< 55	55 - 165	165 - 497	497 - 607	>607
INTERPRETAZIONE	Coerente con l'ipoadrenocorticismo	Coerente con l'HAC iatrogeno	Normale	Dubbio	Coerente con l'HAC

nmol/L	TEST DI SOPPRESSIONE CON DESAMETASONE A BASSO DOSAGGIO*			
Dopo 4 ore	<40	>40 e >50% del basale	<40 e/o <50% del basale	>40
Dopo 8 ore	<40	≥40 e >50% del basale	≥40 e/o <50% del basale	<40
INTERPRETAZIONE	Normale	Coerente con l'HAC (PDH o AT)	Coerente con il PDH	Sono necessari ulteriori test per confermare l'HAC. Coerente con il PDH (schema inverso)

nmol/L	TEST DI SOPPRESSIONE CON DESAMETASONE AD ALTO DOSAGGIO*		
Dopo 4 ore	<40 o <50% del basale OPPURE >40 e >50% del basale	<40 o <50% del basale	>40 e >50% del basale
Dopo 8 ore	<40 o <50% del basale	≥40 e >50% del basale	≥40 e >50% del basale
INTERPRETAZIONE	Coerente con il PDH	Coerente con il PDH	Coerente con il PDH o AT Per la discriminazione sono necessari ulteriori test

Abbreviazioni: HAC: iperadrenocorticismo; PDH: iperadrenocorticismo ipofisi-dipendente; AT: tumori del surrene
Conversione: 1 µg/dL = 27,59 nmol/L

*In caso di errore tecnico durante il protocollo del desametasone, ripetere almeno 48 ore dopo.

Queste raccomandazioni costituiscono unicamente una guida. Questo test ha lo scopo di misurare le concentrazioni di cortisolo nel sangue canino. L'interpretazione dei risultati da parte del veterinario dovrà sempre tenere conto dell'anamnesi, dell'esame clinico dell'animale e di eventuali altri test diagnostici, poiché nessun metodo diagnostico sia preciso al 100%. La diagnosi finale resta una prerogativa e responsabilità del veterinario curante. Bio Veto Test e suoi distributori non possono essere ritenuti responsabili delle conseguenze legate a un utilizzo scorretto o a un'interpretazione scorretta dei risultati forniti da questo test.

