



BIOCLONE

ELEGANCE

KIT IGFBP-2 ELISA

REF 40 BP296

Σ 96

ESPAÑOL



GARANTÍA

El fabricante garantiza únicamente que el kit de diagnóstico mide el analito designado cuando se utiliza según las instrucciones proporcionadas por el fabricante. Cualquier otro uso del kit de diagnóstico es ajeno a la finalidad para la que ha sido concebido este producto y se realiza por cuenta y riesgo del usuario.

El fabricante rechaza toda garantía implícita de comercialización y conveniencia por uso o utilidad implícita para cualquier otro propósito. Toda indemnización por defecto o error del kit de diagnóstico utilizado según sus instrucciones se limita al valor de reemplazo del kit. La sola obligación de Bioclone Australia Pty Limited y sus distribuidores se limita al reemplazo del producto o a la devolución del precio de la compra. Bioclone Australia Pty Limited no es responsable por perjuicios materiales, lesiones personales, o pérdidas económicas causadas por los productos.

SÓLO PARA USO PROFESIONAL

Fabricado por Bioclone Australia Pty Limited
(una subsidiaria de 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 Llamada gratuita 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

USO PREVISTO

El kit *ELEGANCE* IGFBP-2 ELISA ha sido diseñado para la medición cuantitativa diagnóstica *in vitro* de la Proteína de unión al Factor de crecimiento insulínico 2 (IGFBP-2) en suero.

PRINCIPIOS DEL ELISA ELEGANCE

El *ELEGANCE* IGFBP-2 ELISA es un enzimo-inmunoensayo que incorpora anti-IGFBP-2 policlonal de conejo (reactivo anticuerpo) e IGFBP-2 biotinilado (reactivo conjugado). Un policlonal anti-conejo se une a los micropocillos como anticuerpo de captura. Las muestras se prediluyen 1:25 con Calibrador A. El kit es un ensayo competitivo entre calibrador o muestra IGFBP-2 e IGFBP-2 marcado con biotina. Tras la incubación durante la noche con el anticuerpo, los micropocillos se lavan para eliminar cualquier material no unido. Se adiciona estreptavidina-peroxidada (reactivo de amplificación) y se une al anticuerpo biotinilado en muchos sitios. Después del lavado, la solución sustrato reacciona con la peroxidasa unida para producir color en proporción directa con la cantidad de antígeno de la muestra, que se puede calcular de la curva del calibrador.

REACTIVOS ELEGANCE ENTREGADOS, ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN

Tamaño del kit - 96 pruebas. El kit y todos sus componentes, nuevos o ya abiertos, deben ser almacenados a 2-8°C hasta la fecha de caducidad indicada.

IGFBP-2:

Micropocillos recubiertos 96 pocillos REF # BP2A96
Marco con micropocillos recubiertos con anticuerpo anti-IGFBP-2. Lista para usar.

IGFBP-2:

Reactivo anticuerpo 1 ampolla REF # BP2B96
2.5 mL de anticuerpo anti-IGFBP-2 en una solución tampón con BSA y tintura azul. Con Bronidox L. 0.2% v/v y tiomersal. 0.02% w/v. Lista para usar.

IGFBP-2:

Reactivo de amplificación 1 ampolla REF # BP2P96
10 mL de estreptavidina-peroxidada (streptavidina de *S. Avidinii*) en una solución tampón con BSA y tintura violeta. Con Bronidox L. 0.2% v/v y tiomersal 0.02% w/v. Lista para usar.

IGFBP-2:

Reactivo conjugado 1 ampolla REF # BP2C96
2.5 mL de anticuerpo anti-IGFBP-2 biotinilado en una solución tampón con BSA y tintura rojo. Con Bronidox L. 0.2% v/v y tiomersal 0.02% w/v. Lista para usar.

Concentrado de lavado

1 ampolla REF # EWC96
50 mL de una solución para lavado concentrada 15 x. Contiene tiomersal, 0.09% w/v. Para diluir antes de usar.

Solución sustrato TMB N

1 ampolla REF # TMBB96
10 mL 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) y peróxido de hidrógeno en una solución estabilizante. Lista para usar.

IGFBP-2:

Calibradores/Control

1 ampolla REF # EBP2S1
5 ampollas REF # EBP2S2-6
1 ampolla REF # EBP2C1
20 mL de Calibrador A (0 ng/mL concentración) en una solución tampón BSA PBS 4 veces concentrada. Contiene tiomersal 0.01% w/v y Bronidox L. 0.2% v/v. Diluir antes de utilizar.
0.5 mL de Calibradores B-F y Control 1, cada uno en una solución BSA PBS al 1%. Contiene tiomersal, 0.01% w/v y Bronidox L. 0.2% v/v. Liofilizado.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS A LOS USUARIOS

La manipulación de muestras y componentes del kit, su uso, almacenamiento y eliminación debe llevarse a cabo de acuerdo con los procedimientos o reglamentos de seguridad de laboratorio locales o nacionales.

Muestras y calibradores

El material de origen de los calibradores ha sido probado por un método acreditado aprobado para la presencia de antígeno de superficie de la hepatitis B, anticuerpo anti-hepatitis C y anticuerpo anti-HIV - 1/2 (AIDS) y se comprobó que no es reactivo a ninguna de ellas. Sin embargo, se recomienda que todas las muestras sean manipuladas como si fueran capaces de transmitir una enfermedad infecciosa.

Conservantes

El kit contiene tiomersal y Bronidox L como conservantes. Como los reactivos contienen conservantes potencialmente tóxicos, debe ponerse mucho cuidado cuando se los manipule, para evitar ingestión o contacto con la piel.

Sustrato

Evite el contacto con la piel.

OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS Y MANIPULACIÓN

No se requiere preparación especial del paciente. Las muestras pueden ser orina recolectada de una manera adecuada para las pruebas de laboratorio.

Evite utilizar muestras excesivamente hemolíticas, lipémicas y turbidas. Las muestras pueden ser almacenadas a 2-8°C por hasta 48 horas. Las muestras mantenidas por períodos más prolongados deben ser almacenadas a, o por debajo de, -20°C. Las muestras no deben ser congeladas y descongeladas de manera repetida.

Las muestras descongeladas deben ser examinadas por material floculento y mezclado por inversión antes de la prueba. Las muestras turbidas o que contengan partículas deben ser centrifugadas antes de usar.

MATERIALES Y EQUIPO REQUERIDO QUE NO SE PROPORCIONA

- * Agua destilada o desionizada
- * 2M HCl
- * Pipetas de precisión
- * Pipeta repetidora
- * Cilindro de medición de 1L
- * Paño absorbente (libre de hilachas)
- * Timer
- * Mezclador Vortex
- * Agitador de placa de microtitulación
- * Lavador de placa de microtitulación
- * Sistema de lectura de microplaca.

NOTAS DE

PROCEDIMIENTO

Colocar todos los reactivos y especímenes a temperatura ambiente (20-25°C) y mezclar por inversión suave antes de usar. Se recomienda trabajar por duplicado. La contaminación de los reactivos lleva a prestaciones de calidad inferior. Se debería realizar una curva de calibrado para cada ensayo. Las muestras en que se sospechó concentraciones por encima del máximo del calibrador deben ser diluidas en calibrador cero antes del ensayo. Todos los pasos del ensayo deben ser llevados a cabo sin interrupción, pero si no se puede llenar los pocillos con Reactivo de amplificación o solución sustrato inmediatamente después del lavado, los micropocillos deberán ser dejados boca abajo sobre un paño sin hilachas por un máximo de 15 minutos.

Los reactivos están apareados en cada kit, por consiguiente no se deben mezclar reactivos de lotes diferentes. El fotómetro y todas las pipetas deben ser calibrados adecuadamente antes de usar.

Lavado

La eficiencia del paso del lavado es vital para una buena precisión. Los micropocillos se lavan mediante un lavador automático de placas. Evite exceso de líquido entre pocillos.

Control de calidad

Para asegurar un procedimiento correcto, hay que efectuar un control de los especímenes en cada ensayo. Para aprobar el ensayo, los valores de control deben situarse dentro de los valores límites de laboratorio.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Preparación de reactivos Solución de lavado

Diluir el concentrado de lavado 1 en 15 con agua desionizada. La solución de lavado puede ser almacenada a temperatura ambiente (20-25°C) durante 12 semanas.

Calibradores y control

Para reconstituir los calibradores liofilizados y el control, adicionar el volumen de agua desionizada indicado en el rótulo de cada ampolla. Dejar que las ampollas se asienten sin problemas hasta su disolución completa (por lo menos 30 minutos) y luego mezclar por inversión suave. Cada concentración determinada lote a lote se establece en un rótulo separado dentro del kit. Tras la reconstitución los calibradores y controles deben ser almacenados a -20°C hasta un máximo de 4 semanas.

Procedimiento de dilución

Calibrador A

0 ng/mL Concentrado

Diluir calibrador A, 1 en 4 con agua desionizada. Si el Calibrador A se ha cristalizado, calentar a 37°C. La solución calibradora A también se usa como diluyente de la muestra y se la puede almacenar a 2-8°C hasta la fecha de caducidad.

Preparación de la muestra

Las muestras (no los calibradores/controles) deben ser diluidos 1:25.

1. Rotular los tubos de dilución (1 por muestra).
2. Pipetear 10 µL de muestra, adicionar 250 µL de diluyente de Calibrador A. Agitar en el vórtex.

Protocolo

1. Juntar los micropocillos en el marco de acuerdo con el número de pruebas requerido. Embolsar y retornar los pocillos no usados a la temperatura de 2-8°C.
2. Pipetear 50 µL de muestra (calibrador, control, espécimen) en duplicado en los pocillos adecuados. El tiempo para retirar las muestras no debe exceder de 20 minutos.
3. Pipetear 25 µL de reactivo conjugado IGFBP-2 (rojo) en todos los pocillos.
4. Pipetear 25 µL de reactivo anticuerpo anti-IGFBP-2 (azul) en todos los pocillos.
5. Cubrir los micropocillos con una tapa e incubar durante la noche (16-24 horas) de manera estacionara a temperatura ambiente (20-25°C).
6. Después de la incubación, lavar los micropocillos. Aspirar el líquido y enjuagar cada pocillo 4 veces con 250 µL de solución de lavado. Después del lavado final, invertir los micropocillos y tapar firmemente sobre paño absorbente para eliminar todo resto de solución de lavado. Asegurar que no queden burbujas de aire en los pocillos.
7. Pipetear 100 µL de reactivo de aplicación IGFBP-2 (violeta) en todos los pocillos.
8. Cubrir los micropocillos con una tapa e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente (20-25°C) en un agitador para placa.
9. Después de la incubación repetir el paso de lavado.

10. Pipetear 100 µL de solución sustrato en todos los pocillos. El tiempo de la incubación se mide a partir del adicionado de la solución de sustrato al primer pocillo.

11. Cubrir los micropocillos con una tapa e incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente (20-25°C) en un agitador para placa.

12. Pipetear 50 µL de HCl 2M en todos los pocillos en la misma secuencia cronometrada que para la adición de solución sustrato.

13. Realizar una lectura de criterio de valoración a 450 nm y procesar los datos, como se describe en el manual del usuario del lector de microplacas. Este paso de lectura debe ser llevado a cabo dentro de los 30 minutos de detenida la reacción.

CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

El cálculo de resultados puede ser llevado a cabo manualmente, si no hay reducción automática de datos. Determinar el OD de cada pocillo. Interpolarse la curva del calibrador mediante papel logarítmico con concentración de los calibradores sobre el eje X y OD sobre el eje Y. La curva puede ser dibujada punto a punto o de manera adecuada para la curva, como interpolación acanalada. Interpolarse los valores de la muestra del OD medido en esta curva de calibrador. Registrar la muestra en ng/mL IGFBP-2.

Los calibradores están preparados para permitir una dilución de la muestra de 1:25. IGFBP-2 ELISA ELEGANCE es de 0 a 3000 ng/mL, aproximadamente, pero la concentración máxima que puede ser informada se limita por las características de desempeño lineal del fotómetro empleado. Si el valor OD del calibrador más alto se encuentra por encima del intervalo del fotómetro, este calibrador debe ser omitido de la interpolación de la curva del calibrador.

MODELO DE CÁLCULOS

Datos endpoint

ID	Media OD	IGFBP-2 (ng/mL)
0	2.171	
82.7	1.786	
262	1.287	
529	0.839	
1226	0.531	
2766	0.321	
Control 1	0.779	642.0

CALIBRACIÓN

Los calibradores entregados en este kit han sido calibrados y marcados en ng/ml, conforme al material de origen, medido en el análisis de ácido amino.

Para convertir en nmol/L utilice:
$$\text{nmol/L} = \frac{\text{ng/mL}}{0.0321}$$

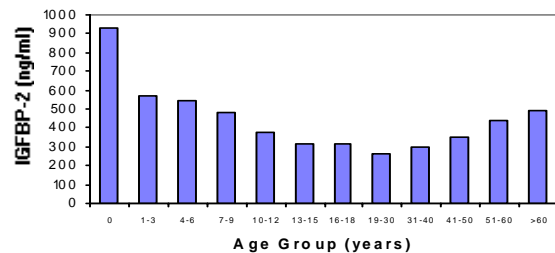
LIMITACIONES

Las muestras de suero que muestren significativa hemólisis, lipemia o turbidez pueden dar resultados falsos.

VALORES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propia escala de referencia basada en una población testigo representativa. El siguiente intervalo de referencia fue obtenido por el ensayo de muestras de suero de individuos sanos y sólo se proporciona como guía:

Combined (M & F) Normal Range (IGFBP-2)
(n=537)



CARACTERÍSTICAS DE REALIZACIÓN

Precisión Intra-prueba

Muestra	n	Media ± 2SD (ng/mL)	%CV
1	19	156 ± 32	10.2
2	19	585 ± 65	5.5
3	19	1567 ± 221	7.1

Precisión Inter-prueba

Muestra	n*	Media ± 2SD (ng/mL)	%CV
1	18	113 ± 22	9.7
2	18	684 ± 118	8.6
3	18	1313 ± 182	6.9

* duplicado

Especificidad

Analyto	Concentración analizada	Reacción cruzada
IGFBP-1	130 µg/mL	indetectable
IGFBP-3	130 µg/mL	indetectable
IGFBP-4	130 µg/mL	indetectable
IGFBP-5	130 µg/mL	indetectable
IGFBP-6	130 µg/mL	indetectable
IGF-I	130 µg/mL	indetectable
IGF-II	130 µg/mL	indetectable
GH	11 µg/mL	indetectable

Precisión

La recuperación se calculó realizando un ensayo antes y después de la adición del analito exógeno.

Muestra	IGFBP-2 (ng/mL) Observado	IGFBP-2 (ng/mL) Esperado	% Recuperación
1	125	121	103.0
2	270	282	96.3
3	934	910	103.0
4	1457	1520	95.7

Dilución

Una muestra fue diluida en calibrador cero; se analizó y se calculó la recuperación.

Muestra	IGFBP-2 (ng/mL) Observado	IGFBP-2 (ng/mL) Esperado	% Recuperación
Limpio	1866		
1/2	1039	933	111.4
1/4	467	467	100.0
1/8	221	233	94.9

Sensibilidad

La sensibilidad del ensayo es típicamente inferior a 10 ng/mL. Hablando de la concentración actual de IGFBP-2, la sensibilidad es típicamente inferior a 0.4 ng/mL.

La sensibilidad se define como aquella concentración de analito que corresponde a la variable de dosis/respuesta (OD) que dista dos desviaciones estándar de la variable media de dosis/respuesta de 8 determinaciones replicadas del calibrador cero en tres ensayos distintos.

Interferencia

No se ha observado interferencia con la recuperación del analito en concentraciones de hemoglobina hasta 250 mg/dL, de bilirubina hasta 10 mg/dL y de triglicérido hasta 970 mg/dL.

INFORMACIÓN PARA PEDIDOS

El IGFBP-2 ELISA ELEGANCE s fabricado por:

Bioclone Australia Pty Limited,
71-73 Railway Parade, Marrickville
NSW 2204, AUSTRALIA.

Teléfono +61 (0) 2 9517 1966

Llamada gratuita: 1800 251 138

Fax +61 (0) 2 9517 2990

Email: sales@bioclone.com.au Web: www.bioclone.com.au

SERVICIO TÉCNICO

Se puede obtener servicio técnico llamando a Bioclone, +61 (0) 2 9517 1966 o llamada gratuita 1800 251 138