



BIOCLONE

ELEGANCE KIT ELISA hCG

REF 40 420096

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 compra. Bioclone Australia Pty Limited no es responsable por perjuicios materiales, lesiones personales o pérdidas económicas causadas por los productos.

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



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 ELISA hCG ELEGANCE ha sido diseñado para la medición diagnóstica cuantitativa o cualitativa in vitro de la gonadotropina coriónica humana (hCG) en suero o en plasma.

PRINCIPIOS DEL ELISA ELEGANCE

El ELEGANCE ELISA es un enzimo-inmunoensayo. El antígeno de la muestra, como en un "sandwich", se ata sea al anticuerpo unido al micropocillo sea al anticuerpo biotinilado reactivo. Los micropocillos se lavan para eliminar cualquier material no unido. Se adiciona estreptavidina-peroxidasa (reactivo de amplificación) y se une al anticuerpo biotinilado en muchos sitios. Después del lavado, se añade solución sustrato que reacciona con la peroxidasa unida para producir color en proporción directa a la cantidad de antígeno de la muestra, que se puede calcular de la curva del calibrador (o por comparación cualitativa con el . Después del lavado, la solución sustrato reacciona con la peroxidasa unida para producir color en proporción directa a la cantidad de antígeno de la muestra, que se puede calcular de la curva del calibrador (o por comparación cualitativa con el Control Positivo).

REACTIVOS ELEGANCE PROPORCIONADOS, ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

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.

hCG:

Micropocillos recubiertos

96 Pocillos REF # CGA96
Marco con micropocillos recubiertos con anticuerpo anti-hCG antibody. Listo para usar.

hCG: Reactivo anticuerpo

1 ampolla REF # CGB96
10 ml de anticuerpo anti-hCG biotinilado en una solución tampón con albúmina bovina sérica, sueros animales no inmunes y colorante azul. Contiene azida sódica, (NaN₃), 0.2% p/v y tiomersal 0.01% p/v. Listo para usar.

hCG: Reactivo de amplificación

1 ampolla REF # CGP96
10 ml de estreptavidina-peroxidasa (streptavidina de *S. Avidinii*) en una solución tampón con albúmina sérica bovina y colorante violeta. Contiene Bronidox L, 0.2% p/v y tiomersal, 0.02% p/v. Listo para usar.

Concentrado para lavado

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

Tampón sustrato

1 ampolla REF # ESB20

20 ml de peróxido de urea en un tampón citrato-fosfato. Contiene tiomersal, 0.01% p/v.

Comprimidos sustrato

1 ampolla REF # EST4

4 comprimidos x 4 mg de ortofenilenediamina (OPD) con principios inactivos.

hCG: Calibradores

6 ampollas REF # ECGS1-6 hCG Control positivo

1 ampolla REF # ECCR

2.0 ml de calibrador A, 0.5 ml de calibradores B-F y Control Positivo cada uno en suero bovino. Contiene NaN₃, 0.1% p/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.

Especímenes, Calibradores y Control Positivo

El material de origen de los calibradores y del Control Positivo 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 ninguno de ellos. Sin embargo, se recomienda que todas las muestras sean manipuladas como si fueran capaces de transmitir una enfermedad infecciosa.

Conservantes

El kit contiene azida sódica, 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.

La azida sódica puede reaccionar con plomo y cobre para formar azidas potencialmente explosiva.

Sustrato

Evitar cualquier contacto con la piel.

OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS Y MANIPULACIÓN

No se requiere una preparación especial del paciente. Las muestras pueden ser orina o suero recolectada de una manera adecuada para las pruebas de laboratorio. Se prefiere suero, sin embargo, pueden emplearse los anticoagulantes heparina o EDTA sin comprometer la precisión. Evite utilizar muestras excesivamente hemolíticas, lipémicas y turbias.

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 para averiguar la presencia de material floculento y mezcladas por inversión antes de la prueba.

Las muestras turbias o que contengan partículas deben ser centrifugadas antes del uso.

MATERIALES Y EQUIPO REQUERIDO QUE NO SE PROPORCIONA

- * Agua destilada o desionizada
- * 1M H₂SO₄
- * Pipetas de precisión
- * Pipeta repetidora
- * Cilindro de medición de 1l
- * Paño absorbente (libre de hilachas)
- * Timer
- * Agitador para microplacas
- * 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 mezclarlos por inversión suave antes del uso. 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 con concentraciones presumiblemente superiores al máximo del calibrador más alto 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 podrán 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 del uso.

Lavado

La eficiencia del paso del lavado es vital para una buena precisión.

Los micropocillos se lavan mediante un lavador automático de placas. Evitar que un exceso de líquido pase de un pocillo a otro.

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.

Solución sustrato.

Se recomienda preparar este reactivo inmediatamente antes de utilizarlo. Colocar el número correcto de comprimidos OPD en la cantidad requerida de Tampón sustrato.

Adicionar 1 comprimido por 5 ml. Una vez que los comprimidos se han disuelto completamente (1-2 minutos) y no quedan burbujas, volver a colocar el tapón en la botella y mezclar por inversión. Evite la luz intensa. La solución sustrato debe ser utilizada dentro de los 30 minutos sucesivos a su preparación.

Calibradores y Control Positivo

Para reconstituir los calibradores liofilizados y el control positivo, adicionar el volumen de agua desionizada indicado en el rótulo de cada vial. Dejar reposar los viales hasta la disolución completa del líofilo (por lo menos 30 minutos) y luego mezclar por inversión suave. La concentración exacta determinada lote a lote se establece en un rótulo separado dentro del kit. Después de la reconstitución, los calibradores/ el control positivo deben ser almacenados a -20°C hasta un máximo de 4 semanas.

Protocolo

Para el test cuantitativo preparar una curva de calibración completa. Para el test cualitativo usar sólo el Calibrador A (control negativo), la Referencia Positiva y el Calibrador E (control positivo).

1. Colocar 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, referencia positiva, espécimen) en duplicado en los pocillos adecuados. El tiempo para dispensar las muestras no debe exceder los 20 minutos.

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

4. Después de la incubación, lavar los micropocillos. Aspirar el líquido y enjuagar bien cada pocillo 4 veces con 250 µl de solución de lavado. Después del lavado final, invertir los micropocillos y taponar firmemente sobre paño absorbente para eliminar todo resto de solución de lavado. Asegurarse que no queden burbujas de aire en los pocillos.

5. Pipetear 100 µl de anticuerpo reactivo hCG (azul) en todos los pocillos.

6. Cubrir los micropocillos con la tapa e incubar en un agitador de placas durante 15 minutos a temperatura ambiente (20-25°C).

7. Después de la incubación, repetir el paso de lavado.

8. Pipetear 100 µl de reactivo hCG de amplificación (violeta) en todos los micropocillos.

9. Cubrir los micropocillos con la tapa e incubar en un agitador de placas durante 10 minutos a temperatura ambiente (20-25°C).

10. Después de la incubación, repetir el paso de lavado.

11. Pipetear 100 µl de solución sustrato preparada en todos los pocillos. El tiempo de la etapa de incubación se mide desde la adición de solución sustrato al primer pocillo.

12. Cubrir los micropocillos con la tapa e incubar por 5 minutos, sin agitar, a temperatura ambiente (20-25°C).

13. Pipetear 50 µl de 1M H₂SO₄ en todos los pocillos en la misma secuencia medida que para la adición de la solución sustrato.

14. Realizar una lectura end-point a 490 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 del final de la reacción.

CÁLCULO DE RESULTADOS
El cálculo de resultados puede ser llevado a cabo manualmente, si no hay reducción automática de datos. Determinar la densidad óptica (DO) de cada pocillo.

Test cuantitativo

Interpolar la curva del calibrador mediante papel logarítmico con concentración de los calibradores sobre el eje X y la DO sobre el eje Y. La curva puede ser dibujada punto por punto o utilizando una rutina de interpolación, basada por ejemplo en las funciones de spline. Interpolar los valores de la muestra de la DO medida en esta curva de calibración. Registrar el valor de cada muestra en IU/L de hCG. El intervalo del ELISA hCG *ELEGANCE* es de 0 a 500 IU/L, aproximadamente, pero la concentración máxima que puede ser medida con fiabilidad está limitada por las características de desempeño lineal del fotómetro empleado.

Si el valor de DO del calibrador más alto es superior al intervalo del fotómetro, este calibrador debe ser omitido del gráfico de la curva de calibración.

Test cualitativo

Comparar el valor DO (muestra) con el valor DO (Referencia Positiva). Los resultados se expresan en porcentaje respecto al valor de la Referencia Positiva.

Negativo < 85%
Positivo > 100%
Borderline 85-100%

En los casos borderline, habría que volver a efectuar el ensayo con un espécimen tomado del paciente después de 48 horas.

MODELO DE CÁLCULOS

ID	DO media	hCG (IU/L)
0	0.036	
5	0.069	
15	0.141	
50	0.345	
150	0.985	
500	2.529	
Muestra 1	0.116	11.6
Muestra 2	0.227	28.5
Muestra 3	0.845	128.6

CALIBRADO

Los calibradores proporcionados en este kit han sido calibrados y exprimidos en IU/L, según la referencia internacional WHO 3rd 75/537.

LIMITACIONES

Los especímenes de suero con exceso de hemólisis, lipemia o turbidez puede dar resultados falsos.

VALORES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propia escala de referencia basada en una población testigo representativa. El hCG no es secretado en los hombres sanos, en las mujeres post-menopáusicas y en las mujeres no embarazadas. El siguiente intervalo de referencia fue obtenido utilizando muestras de suero de mujeres embarazadas y sólo se proporciona como ejemplo:

Semanas después del último ciclo menstrual	Range hCG (IU/L)
2 - 3	100 - 19400
4 - 5	78 - 48030
6 - 7	75 - 99410
8 - 12	5750 - 48200
> 12	10740 - 13470

CARACTERÍSTICAS DE MEDICIÓN

Precisión Intra-serie

Muestra	n	Media ± 2SD (IU/L)	%CV
1	16	8.0 ± 1.4	8.8
2	16	23.6 ± 2.6	5.5
3	16	58.7 ± 7.2	6.1

Precisión Inter-serie

Muestra	n *	Media ± 2SD (IU/L)	%CV
1	33	8.5 ± 2.0	11.8
2	33	25.7 ± 6.1	11.9
3	33	138.2 ± 22.0	8.0

* duplicado

Especificidad

Análito	Concentración analizada	hCG aparente Resultados (UI/L)
hLH	177 IU/L	6.5
	88 IU/L	< 2
hFSH	165 IU/L	< 2
hTSH	1150 mIU/L	< 2

Precisión

La recuperación ha sido calculada analizando antes y después de la adición del analito exógeno.

Muestra	hCG (IU/L) Observado	hCG (IU/L) Esperado	% Recuperación
1	8.7	8.9	97.8
2	25.6	25.5	100.4
3	41.0	40.0	102.5
4	158.7	159.7	99.4

Dilución

Una muestra ha sido diluida en calibrador cero, analizada y se ha calculado la recuperación.

Muestra	hCG (IU/L) Observado	hCG (IU/L) Esperado	% Recuperación
Limpio	130.3		
1/2	67.7	65.2	103.8
1/4	32.6	32.6	100.0
1/8	15.7	16.3	96.3

Efecto gancho a dosis altas

Debido al efecto gancho a dosis altas, característico del ensayo, las muestras mayores de 1.000.000 IU/L pueden dar resultados aberrantes, inferiores a los valores del calibrador más alto del kit. Estas muestras deben ser diluidas con el calibrador cero y analizadas de nuevo.

Sensibilidad

La sensibilidad del ensayo es típicamente inferior a 2 IU/L. La sensibilidad se define como aquella concentración de analito que corresponde a la variable dosis/respuesta (DO) que dista dos desviaciones estándar de la variable dosis respuesta media de 16 determinaciones repetidas del análisis del calibrador cero en tres ensayos distintos.

Interferencia

No se ha observado alguna interferencia con recuperación del analito para concentraciones de hemoglobina hasta 250 mg/dl, de bilirrubina hasta 10 mg/dl y de triglicéridos hasta 970 mg/dl.

INFORMACIÓN PARA PEDIDOS

El KIT ELISA hCG *ELEGANCE* es 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 con Llamada gratuita al nr. 1800 251 138

PART Nr.: EKBHCGS Ed. 5 Fecha de revisión: 14 Luglio 2006