



BIOCLONE

ELEGANCE

## IgE ELISA KIT

REF 40 435096

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.

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 REF 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 IgE ELEGANCE ha sido diseñado para la medición cuantitativa diagnóstica *in vitro* de la IgE en suero o en plasma.

### PRINCIPIOS DE ELEGANCE ELISA

El ELEGANCE ELISA es un enzimo-inmunoensayo. El antígeno de la muestra es («sándwich») entre el anticuerpo unido al micropocillo y el reactivo biotinilado del anticuerpo. 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, 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.

### 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.

### IgE: Micropocillos recubiertos

96 pocillos REF # IEA96  
Marco con micropocillos recubiertos con anticuerpo anti-IgE. Lista para usar.

IgE: Reactivo anticuerpo 1 ampolla REF # IEB96  
10 ml de anticuerpo anti-IgE biotinilado en una solución tampón con albúmina bovina sérica, suero animal no inmune y una tintura azul. Contiene azida sódica 0,2% p/v y tiomersal 0,01% p/v. Listo para usar.

IgE: Reactivo de amplificación 1 ampolla REF # IEP96  
10 ml de estreptavidina-peroxidasa (streptavidina de *S. Avidinii*) en una solución tampón con albúmina sérica bovina y tintura 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.

### IgE: Calibradores

1 ampollas REF # EIES1-6  
2,0 ml de calibrador A y 0,5 ml de calibradores B-F cada uno en suero bovino. Contiene azida sódica 0,1% p/v. Liofilizada.

### 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 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 explosivas.  
**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 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 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 REQUERIDOS NO INCLUIDOS

- \* Agua destilada o desionizada
- \* 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- \* 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 DEL ENSAYO

#### Preparación de los Reactivos Solución para 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 que este reactivo sea preparado inmediatamente antes de usar.

Coloque el número correcto de comprimidos OPD en la cantidad requerida de tampón sustrato. Adicione 1 comprimido por 5 ml. Una vez que los comprimidos se han disuelto completamente (1-2 minutos) y no quedan burbujas, vuelva a colocar el tapón en la botella y mezcle por inversión. Evite la luz intensa. La solución sustrato debe ser preparada dentro de los 30 minutos anteriores a su preparación

#### Calibradores

Para reconstituir los calibradores liofilizados, 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 simple. Cada concentración determinada lote a lote se establece en un rótulo separado dentro del kit. Después de la reconstitución, los calibradores pueden ser almacenados a -20°C hasta un máximo de 4 semanas.

#### 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 25 µl de muestra (calibrador, control, muestra) en duplicado en los pocillos adecuados. El tiempo para retirar las muestras no debe exceder de 20 minutos.
3. Pipetear 100 µl de reactivo anticuerpo anti-IgE (azul) en todos los pocillos.
4. Cubrir los micropocillos con una tapa e incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente (20-25°C) en un agitador para placa.
5. 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.
6. Pipetear 100 µl de reactivo de aplicación IgE (violeta) en todos los pocillos.
7. Cubrir los micropocillos con una tapa e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente (20-25°C) en un agitador para placa.

#### CALIBRACIÓN

Los calibradores entregados en este kit han sido calibrados y marcados en kIU/l, conforme a la Organización Mundial de la Salud (OMS) Segundo IRP 75/502.

#### LIMITACIONES

Las muestras de suero que muestren fuerte hemólisis, lipemia o turbidez pueden falsear los resultados.

8. Después de la incubación repetir el paso de lavado.

9. 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.

10. Cubrir los micropocillos con una tapa e incubar de manera estacionaria durante 5 minutos a temperatura ambiente (20-25°C).

11. Pipetear 50 µl de 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en todos los pocillos en la misma secuencia medida que para la adición de la solución sustrato.

12. Realizar una lectura de criterio de valoración 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 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 el valor de cada muestra en kIU/l de IgE. El intervalo del IgE ELISA *ELEGANCE* es de 0 a 1000 kIU/l, 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	Promedio OD	IgE (kIU/l)
		0	0.045	
		3	0.082	
		10	0.137	
		30	0.291	
		200	0.949	
		1000	1.563	
	Muestra 1	0.253	25.2	
	Muestra 2	1.003	232.2	
	Muestra 3	0.082	3.1	

#### VALORES ESPERADOS

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

95% de los valores eran inferiores a	287.1	kIU/l
75% de los valores eran inferiores a	82.7	kIU/l
50% de los valores eran inferiores a	31.3	kIU/l

#### CARACTERÍSTICAS DE REALIZACIÓN

##### Precisión Intra-prueba

Muestra	n	Media ± 2SD (kIU/l)	%CV
1	16	20.5 ± 2.2	5.4
2	16	132.8 ± 16.5	6.2
3	16	266.6 ± 23.1	4.3

##### Precisión Inter-prueba

Muestra	n *	Media ± 2SD (kIU/l)	%CV
1	40	20.7 ± 2.0	4.8
2	40	74.9 ± 10.7	7.1
3	40	141.1 ± 23.7	8.4

\* duplicado

##### Especificidad

Analito	Concentración analizada	IgE aparente resultado (kIU/l)
IgM	0.39 mg/ml	indetectable
IgA	0.29 mg/ml	< 2
IgG	3.75 mg/ml	< 2

##### Precisión

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

Muestra	IgE (kIU/l) Observado	IgE (kIU/l) Esperado	% Recuperación
1	78.5	77.9	100.8
2	124.5	125.8	99.3
3	165.9	177.6	93.4
4	218.5	215.4	101.4

##### Dilución

Una muestra fue diluida en calibrador cero, analizada y se calculó la recuperación.

Muestra	IgE (kIU/l) Observado	IgE (kIU/l) Esperado	% Recuperación
Limpio		168.7	
1/2	81.0	84.4	96.0
1/4	42.9	42.2	101.7
1/8	22.8	21.1	108.1

##### Efecto gancho de la dosis alta

Debido al efecto gancho de la dosis alta, característico del ensayo, las muestras mayores de 8000 kIU/l pueden falsear los resultados, menos que los del mayor calibrador del kit. Estas muestras deben diluirse con el calibrador cero y volver a analizarse.

##### Sensibilidad

La sensibilidad del ensayo es típicamente inferior a 1,0 kIU/l. La sensibilidad se define como aquella concentración de analito que corresponde a la variable dosis respuesta (OD) 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 observó interferencia con recuperación de electrolitos para concentraciones de hemoglobina de hasta 250 mg/dl, bilirrubina hasta 10 mg/dl y triglicéridos hasta 970 mg/dl.

#### INFORMACIÓN PARA PEDIDOS

El KIT ELISA IgE *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 llamada gratuita 1800 251 138