



BIOCLONE

ELEGANCE

KIT NEONATAL IRT

ELISA

REF 40 500480

REF 40 502400

Σ 480

Σ 2400

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

(filial 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 Freecall 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 ELEGANCE Neonatal IRT ELISA ha sido creado para la medición diagnóstica cuantitativa *in vitro* del tripsinógeno inmunoreactivo (IRT) en el control de spot test de sangre humana neonatal.

PRINCIPIOS DEL ELEGANCE ELISA

El ELEGANCE ELISA es un enzimo-inmunoensayo con sustancias inmuoabsorbentes unidas a enzimas. El IRT (Tripsinógeno InmunoReactivo) es eluido del spot test y se ata sea al primer anticuerpo unido a las paredes del pocillo sea al segundo anticuerpo biotinilado del reactivo (técnica sandwich). Se efectúa un lavado de los pocillos para quitar cualquier material no atado. Se añade estreptavidina peroxidada (Reactivo Amplificador) que forma enlaces múltiples con el anticuerpo biotinilado. Después del lavado, la solución de substrato reacciona con cualquiera peroxidada atada produciendo color en proporción directa con la cantidad de antígeno presente en la muestra. La cantidad de antígeno puede ser calculada de la curva de calibrado.

ELEGANCE: REACTIVOS SUMINISTRADOS, ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Tamaño del kit - 480 test y 2400 test (entre paréntesis).

El kit y todos sus componentes, nuevos o ya abiertos, deben almacenarse a 2-8°C hasta la fecha de caducidad indicada.

Neonatal IRT:

Pocillos recubiertos

1 x 96 pozos REF # ITA96

5 x 96 pozos REF # ITA5

(25 x 96 pozos REF # ITA25)

Placa que contiene pocillos recubiertos de anticuerpo anti-IRT. Lista para usar.

Neonatal IRT:

Reactivo Anticuerpo

1 ampolla REF # ITB480

(1 ampolla REF # ITB25)

50 (250) ml anticuerpo biotinilado anti-IRT en una solución tampón que contiene albúmina de suero bovino y un colorante azul.

Contiene azida de sodio, 0.1% w/v. Listo para usar.

Neonatal IRT:

Reactivo Amplificador

1 ampolla REF # ITP480

(1 ampolla REF # ITP25)

50 (250) ml de estreptavidina peroxidada (estreptavidina de *S. avidinii*) en una solución tampón que contiene albúmina de suero bovino y un colorante violeta.

Contiene Bronidox L, 0.2% v/v y thiomersal, 0.02% w/v.

Listo para usar.

Concentrado de Lavado

1 ampolla REF # EWC5

(2 ampollas REF # EWC25)

250 (500) ml de solución de lavado 15 x concentrada. Contiene thiomersal, 0.09% w/v.

Diluir antes de utilizar.

Solución Estabilizante de Stop

1 ampolla REF # ESCL5

(1 ampolla REF # ESCL25)

30 (124) ml 2M HCL.

Listo para usar.

Solución Substrato TMB N

1 ampolla REF # TMBB5

(1 ampolla REF # TMBB25)

50 (250) ml 3,3', 5,5'-

tetramethylbenzidine y peróxido de hidrógeno en solución

estabilizadora. Lista para usar.

Neonatal IRT:

Calibradores

Disponible en cualquiera:

6 ampollas REF # EITS7

(2 x 6 ampollas REF # EITS7)

0.5 ml cada uno, en una solución tampón que contiene BSA y un colorante amarillo. Contiene azida de sodio, 0.2% w/v y thiomersal, 0.01% w/v. Liofilizados.

O:

Neonatal IRT:

Calibradores y Controles de los Spot de sangre

1 set REF # ETNS6

(4set REF # ETNS7)

Spot secos de TSH humano con 6 calibradores (A-F) y 2 controles (1-2) en papel de filtro.

Listos para usar. (Adicionalmente calibrador [aproximadamente 1000 ug/L] y control estan disponibles a pedido.

PRECAUCIONES Y RECOMENDACIONES PARA EL USUARIO

El manejo de las muestras y de los componentes del kit, su uso, almacenamiento y eliminación, debe desarrollarse en acuerdo con los procedimientos y las normas locales o nacionales para la seguridad en el trabajo de laboratorio.

Especímenes y Calibradores

El material original de los calibradores ha sido examinado con un método aprobado y acreditado para averiguar la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B, del anticuerpo de la hepatitis C y del anticuerpo HIV - 1/2 (AIDS): se ha encontrado que no es reactivo para ninguno de ellos. Sin embargo, se recomienda que todas las muestras se manejen como si pudieran transmitir enfermedades infeccivas.

Agentes conservadores

El kit contiene los siguientes agentes conservadores: azida de sodio, thiomersal y Bronidox L. Como los reactivos contienen agentes conservadores potencialmente tóxicos, durante su manejo hay que tener cuidado para evitar la ingestión o el contacto con la piel. La azida de sodio puede reaccionar con plomo y tuberías de cobre formando azidas potencialmente explosivas.

Solución Estabilizante de Stop

Evitar cualquier contacto con la piel.

RECOGIDA Y MANEJO DE LOS ESPECIMENES

El ELEGANCE Neonatal IRT ELISA ha sido creado para ser utilizado con muestras de sangre neonatal recogidas mediante toma capilar por punción del talón y secada sobre papel de filtro según las instrucciones NCCLS LA4A, donde aplicables. El papel de filtro debe ser Schleicher and Schuell Grade 903 de manera que las muestras sean equivalentes a los calibradores proporcionados.

La sangre de un prick test neonatal del talón se recoge 3-5 días después del nacimiento. Con una aplicación del papel de filtro sobre una gota de sangre fluuyente del talón pinchado del niño, se obtiene una mancha de sangre que recubre un área circular testigo en el papel de filtro.

El área testigo en el papel de filtro debe ser cubierta enteramente y completamente impregnada de sangre. Después de recoger las muestras para el test, hay que secar los papeles de filtro horizontalmente (2 horas o más). Los especímenes secos pueden almacenarse a 2-8°C. Se deben analizar sólo los spot de sangre preparados en el modo descrito arriba. Los papeles de filtro inutilizados se deben secar a temperatura ambiente.

MATERIALES Y EQUIPOS REQUERIDOS QUE NO SE PROPORCIONAN

- * Agua destilada o desionizada
- * Cortadora mecánica de discos (3mm)
- * Pinzas
- * Pipetas de precisión
- * Pipetas repetidoras
- * Tubo graduado 1l
- * Tejido absorbente (sin hilachas)
- * Timer
- * Agitador para microplacas
- * Lavador de microplacas
- * Sistema de lectura de microplacas.

NOTAS DE PROCEDIMIENTO

Llevar a temperatura ambiente (20-25°C) todos los reactivos y las muestras y mezclarlos suavemente por inversión 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 test. Antes del primer lavado, se deben remover los discos por succión o punzando suavemente con un alfiler.

Todas las etapas del ensayo deben realizarse sin interrupción, pero si los pocitos no pueden ser llenados con el Reactivo Amplificador o la Solución de Substrato inmediatamente después del lavado, entonces se pueden dejar las microplacas volcadas en un tejido sin hilachas por un máximo de 30 minutos.

Los reactivos están apareados en cada kit, por consiguiente no se deben mezclar reactivos de lotes diferentes.

Antes del uso hay que calibrar adecuadamente el fotómetro y todas las pipetas utilizadas.

Lavado

La eficacia de la operación del lavado es vital para una buena precisión. Los pocillos se lavan utilizando un lavador automático de placa. Evitar desbordamientos 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.

MÉTODO DE ENSAYO

Preparación de los Reactivos

Solución de lavado

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

Liofilizados Calibradores*

Para reconstituir los calibradores liofilizados, añadir el volumen de agua desionizada indicado en la etiqueta de cada vial. Dejar reposar los viales hasta la disolución completa (por lo menos 30 minutos), después mezclar suavemente por inversión. Las concentraciones exactas determinadas para cada lote están declaradas en una etiqueta separada en el interior del kit. Después de la reconstitución, los calibradores deben ser almacenados a -20°C hasta un máximo de 8 semanas.

Calibradores y Controles de los Spot de sangre*

Las concentraciones exactas determinadas para cada lote están declaradas en una etiqueta separada por cada set de spot de sangre.

Para evitar la condensación, no abrir los spot test de sangre antes del reequilibrio de la temperatura. Volver a cerrar herméticamente en la bolsa del plástico las tiras impregnadas inutilizadas y almacenar a 2-8°C.

Protocolo

1. Montar en la placa el número de pocillos necesitados en base al número de test a efectuar. Reponer en su bolsa los pocillos inutilizados y volver a guardarlos a 2-8°C.

2. Poner discos de 3 mm de espécimen o de control en los pocillos apropiados. Al cortar los discos de la muestra, mantenerse en el centro de la mancha evitando los bordes.

3. Pipetear 15 µl o un solo disco perforado de 3 mm de cada calibrador (proveído) en cada uno de los pocillos apropiados. El tiempo tomado para distribuir las muestras no debe superar los 20 minutos.

4. Pipetear 100 µL Reactivo Anticuerpo anti-IRT neonatal (azul) en todos los pocillos.

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

6. Incubar los pocillos por una noche (16-24 horas) a temperatura ambiente estacionaria (20-25°C).

7. El día siguiente incubar durante 10 minutos en un agitador de placa a temperatura ambiente (20-25°C).

8. Después de la incubación, quitar los discos.

9. Lavar los pocillos. Aspirar el líquido y enjuagar cada pozo 4 veces con 250 µL de solución de lavado. Después del lavado final, volcar los pocillos sobre el tejido absorbente y sacudir firmemente para quitar cualquier resto de Solución de Lavado. Asegurarse de que no quedan burbujas de aire en los pocillos.

10. Pipetear 100 µl de Reactivo

Amplificador IRT Neonatal (violeta) en cada pozo.

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

12. Después de la incubación, repetir la etapa de lavado.

13. Pipetear 100 µl de Solución de Substrato en todos los pozos. El cálculo del tiempo de la etapa de incubación se mide a partir de la adición de la Solución de Substrato al primer pozo.

14. Cubrir los pocillos con la tapa e incubar durante 10 minutos sin agitación a temperatura ambiente (20-25°C).

15. Pipetear 50 µl de Solución Estabilizadora de Stop en todos los pozos, en el mismo tiempo y secuencia determinados para la adición de la Solución de Substrato.

16. Realizar una lectura a punto final (end-point) a 450 nm y procesar los datos como descrito en el manual del usuario del lector de microplacas. Este paso de lectura debe realizarse dentro de los siguientes 30 minutos desde la parada de la reacción.

CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

El cálculo de los resultados puede efectuarse manualmente si no se dispone de programas de análisis de datos.

Determinar la D.O. por cada pozo.

Trazar la curva de calibrado utilizando papel logarítmico para gráficos con concentración de los calibradores en el eje X y la D.O. en el eje Y. La curva puede dibujarse punto por punto o se puede utilizar un programa de ajuste de curvas, como por ejemplo la interpolación mediante esplines. Interpolarse los valores de la muestra utilizando la D.O. medida en esta curva de calibrado. Anotar el valor por cada muestra en µg/l IRT sanguíneo completo.

El ámbito del ELEGANCE

Neonatal IRT va desde 0 hasta aproximadamente 1000* µg/l sangre entera, pero la concentración máxima que se puede declarar está limitada por las características de performance lineal del fotómetro utilizado.

Si el valor de D.O. del calibrador más alto es superior a la escala de medida del fotómetro, entonces hay que omitir este calibrador del diagrama de la curva de calibrado. Igualmente toda muestra con valor superior al range del lector de microplaca se debe anotar simplemente como mayor que el calibrador más alto aceptable.

EJEMPLO DE CÁLCULOS

Datos de punto final

ID	D.O.Medida	IRT (µg/l W.B.)
0	0.054	
13.2	0.507	
30.8	1.169	
67.8	2.011	
161	2.629	
331	3.052	
1041*	3.513	
Muestra 1	1.630	46.8
Muestra 2	2.315	103.8
Muestra 3	2.930	271.8

CALIBRADO

Los calibradores proporcionados en este kit están calibrados basándose en la medida de las proteínas y se expresan en µg/l en sangre entera. Se considera que el volumen de sangre en un disco de 3 mm es de 3 µl con un valor de hematocrito del 55% (v/v). Se puede hacer una conversión de las unidades estándares utilizando la relación siguiente:

$$\mu\text{g/l suero} = \mu\text{g/l sangre entera} \times 2.2$$

VALORES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propia escala de referencia basada en una población-testigo representativa. Normalmente, para los bebés 3-5 días después del nacimiento se utiliza un valor de cut-off de 50 µg/l en sangre entera. Muestras con medida inferior al cut-off positivo presunto se consideran normales. Se ha encontrado que las concentraciones de tripsinógeno en niños sanos no son distribuidas normalmente pero se pueden convertir a una distribución normal por medio de una transformación logarítmica.

CARACTERÍSTICAS DE LA MEDIDA

Precisión Intra-serie

Muestra	n	Media ± 2SD (µg/l en sangre entera)	%CV
1	20	33.1 ± 1.8	2.8
2	20	58.0 ± 5.7	4.9
3	20	14.9 ± 2.4	7.9

Precisión Inter-serie

Muestra	n *	Media ± 2SD (µg/l en sangre entera)	%CV
1	66	28.0 ± 2.8	5.0
2	66	56.4 ± 6.2	5.5
3	66	15.8 ± 3.5	11.0

* duplicado

Especificidad

Analito	Concentración ensayada	IRT aparente (µg/l W.B.)	Xreactividad
<u>Humano</u>			
α ₂ -Macroglobulina	50 mg/ml	<1*	ND
α-1-Antitripsina	3 mg/ml	<1*	ND
α-Quimotripsina A	780 ng/ml	<1*	ND
<u>Bovino</u>			
Tripsinógeno	500 ng/ml	<1*	ND

Exactitud

La recuperación analítica ha sido calculada ensayando antes y después de la adición de analito exógeno.

Muestra	IRT observado (µg/l W.B.)	IRT esperado (µg/l W.B.)	% recuperación
1	95.3	94.7	100.6
2	154.0	153.0	100.7
3	259.7	226.0	114.9

Dilución

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

Muestra	IRT observado (µg/l W.B.)	IRT esperado (µg/l W.B.)	% Recuperación
No diluido	196.7		
1/2	98.0	98.4	99.6
1/4	49.7	49.2	101.0
1/8	24.5	24.6	99.6

High-dose Hook Effect

Los efectos Hook son característicos de estos ensayos y pueden ocurrir cuando muestras con altos valores producen resultados IRT aberrantes. No se ha encontrado efecto Hook en las pruebas de muestras con valores IRT superiores o iguales al límite del test de 80000 µg/l sangre entera.

Sensibilidad

La sensibilidad del ensayo es típicamente inferior a 1 µg/l en sangre entera (2.2 µg/l en suero). Se define "sensibilidad" aquella concentración de analito que corresponde a la variable dosis-respuesta (D.O.) que dista dos desviaciones estándar de la media de la variable dosis-respuesta de 26 determinaciones repetidas del análisis del calibrador cero en tres ensayos diferentes.

INFORMACIÓN PARA PEDIDOS Y SERVICIO TÉCNICO

El ELEGANCE NEONATAL IRT ELISA es fabricado por:

Bioclone Australia Pty Limited,
71-73 Railway Parade, Murrumbidgee, NSW 2204, AUSTRALIA.
Teléfono +61 (0) 2 9517 1966 Número verde 1800 251 138
Fax +61 (0) 2 9517 2990
Email sales@bioclone.com.au Web www.bioclone.com.au

SERVICIO TÉCNICO

Servicio técnico disponible llamando a Bioclone al
+61 (0) 2 9517 1966 o Número verde 1800 251 138

PART No.: EKBIRTS Ed. 6

Fecha de revisión: 5 Mayo 2008

(*si aplicable)