



BIOCLONE

ELEGANCE KIT ELISA PROGESTERONA

REF 40 490096

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 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 ELISA Progesterona ELEGANCE ha sido diseñado para la medición cuantitativa diagnóstica *in vitro* de la Progesterona (P₄) en suero o en plasma.

PRINCIPIOS DE ELEGANCE ELISA

El ELEGANCE ELISA P₄ es un enzimo-inmunoensayo que incorpora un anticuerpo monoclonal anti-progesterona (Reactivo anticuerpo) y un anticuerpo polyclonal anti-IgG de ratón unido a los micropocillos. Es un método "competitivo" en un paso, que utiliza progesterona conjugada con la peroxidasa del rábano (P₄-HRP) para producir la señal generada. Durante la incubación se forman complejos entre el anticuerpo monoclonal y el antígeno de la muestra o P₄-HRP. Esto ocurre ya que el anticuerpo es capturado por el anticuerpo secundaria unido al micropocillo. Los micropocillos se lavan para eliminar cualquier material no unido. Después del lavado, la solución sustrato reacciona con la peroxidasa unida para producir color en proporción inversa 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.

Progesterona:
Micropocillos recubiertos
96 pocillos REF # P4A96
Marco con micropocillos recubiertos con anticuerpo anti-P₄. Lista para usar.

Progesterona:
Reactivo anticuerpo
1 ampolla REF # P4B96
5 ml de anticuerpo anti-progesterona de ratón en una solución tampón con proteínas séricas animales con una tinción azul. Contiene Bronidox L. 0,2% p/v y tiomersal 0,01% p/v. Listo para usar.

Progesterona:
Reactivo conjugado
1 ampolla REF # P4C96
5 ml progesterona-HRP conjugada en una solución tampón con una tinción violeta. Con Bronidox L. 0,2% p/v y tiomersal. 0,02% p/v. Lista para usar.

Concentrado para lavado
1 ampolla REF # EWC96
50 ml de una solución para lavado concentrada 15x. Con tiomersal, 0,09% p/v. A diluir antes de usar.

Solución sustrato

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

Progesterona: Calibradores
6 ampollas REF # EP4S1-6
2,0 ml de calibrador A y 0,5 ml de calibradores B-F cada uno en suero humano. Contiene tiomersal. 0,01% 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-VIH 1/2 (SIDA) 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 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 H₂SO₄
- * 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.

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 exacta determinada lote a lote se establece en un rótulo separado dentro del kit. Después de la reconstitución, los calibradores deben 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 50 µl de muestra (calibrador, control, espécimen) en duplicado en los pocillos adecuados. El tiempo para retirar las muestras no debe exceder de 40 minutos.
3. Pipetear 50 µl de reactivo de progesterona conjugada (violeta) en todos los pocillos.
4. Pipetear 50 µl de reactivo anticuerpo anti-progesterona conjugada (azul) en todos los pocillos.
5. Cubrir los micropocillos con una tapa e incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente (20-25°C) en un agitador para placa.
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 solución sustrato (TMB N) en todos los pocillos. El tiempo de la etapa de incubación se mide desde la adición de solución sustrato al primer pocillo.
8. Cubrir los micropocillos con una tapa e incubar de manera estacionaria durante 5 minutos a temperatura ambiente (20-25°C).
9. Pipetear 50 µl de 1M H₂SO₄ en todos los pocillos en la misma secuencia medida que para la adición de la solución sustrato.

VALORES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propia escala de referencia basada en una población testigo representativa. El siguiente intervalo de referencia, calculado a un intervalo de confianza de 95%, fue obtenido por el ensayo de muestras de suero de individuos sanos y sólo se proporciona como guía:

10. 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. Esta etapa de lectura debe realizarse dentro de los 15 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 rutina, como interpolación logística de 4 parámetros. Interpolarse los valores de la muestra del OD medido en esta curva de calibrador. Registrar el valor de cada muestra en nmol/l P₄. El intervalo del Progesterona ELISA *ELEGANCE* es de 0 a 100 nmol/l, aproximadamente, pero la concentración mínima 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	P ₄ (nmol/l)
	0	2.815	
	1.0	2.230	
	3.0	1.723	
	10	0.867	
	30	0.367	
	100	0.128	
Muestra 1	1.523		3.79
Muestra 2	0.457		23.40
Muestra 3	0.224		53.30

CALIBRACIÓN

Los calibradores proporcionados en este kit se calibran y rotulan en nmol/l. La conversión de las unidades del calibrador pueden realizarse mediante la siguiente relación:

$$\text{ng/ml } P_4 = \frac{\text{nmol/l } P_4}{3,18}$$

LIMITACIONES

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

	n	Intervalo (nmol/l)	
Varón adulto	68	< 4,5	(2,2)
Mujer adulta			
Fase folicular	36	0,7 - 3,5	(2,1)
Fase lútea	40	>> 5,0*	
Postmenopáusica	11	< 1,6	(0,7)

* Normalmente <60 nmol/L; () los números entre paréntesis representan la media

Durante el embarazo			
1er trimestre	< 100	nmol/l	
2do trimestre	100 - 300	nmol/l	
3er trimestre	> 300	nmol/l	

CARACTERÍSTICAS DE REALIZACIÓN

Precisión Intra-prueba

Muestra	n	Media ± 2SD (nmol/l)	%CV
1	16	3.35 ± 0.34	5.1
2	16	18.50 ± 0.91	2.5
3	16	41.40 ± 2.62	3.2

Precisión Inter-prueba

Muestra	n *	Media ± 2SD (nmol/l)	%CV
1	40	3.40 ± 0.59	8.7
2	40	19.90 ± 2.87	7.2
3	40	46.40 ± 6.79	7.3

* duplicado

Precisión

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

Muestra	P ₄ (nmol/l) observado	P ₄ (nmol/l) esperado	% Recuperación
1	4.64	4.77	97.3
2	5.36	5.12	104.6
3	5.79	6.12	94.6
4	8.59	9.62	89.3

Dilución

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

Muestra	P ₄ (nmol/l) observado	P ₄ (nmol/l) esperado	% Recuperación
Limpio	21.0		
1/2	10.4	10.5	99.0
1/4	5.1	5.3	97.1
1/8	2.5	2.6	96.2

Especificidad

Analito	% Reacción cruzada
Progesterona*	100,00
17 α-OH-Progesterona	1,80
Pregnenolona	1,10
Deoxycorticosterona	0,47
Androstenediol	<0.20
Colesterol	<0.20
Corticosterona	>0.20
Cortisol	<0.20
11-Deoxycortisol	<0.20
17α-Estradiol	<0.20
17β-Estradiol	<0.20
Estríol	<0.20
Estrona	<0.20
Pregnanolona	<0.20
20α-OH-Progesterona	<0.20
20β-OH-Progesterona	<0.20
Testosterona	<0.20

Sensibilidad

La sensibilidad del ensayo es típicamente menor a 0,25 nmol/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 20 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 Progesterona *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