

.....



BIOCLONE

ELEGANCE

KIT FT₄ ELISA

REF 40 465096

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. Tel: +44 1628 585 591

USO PREVISTO

El kit *ELEGANCE* ELISA FT₄ ha sido diseñado para la medición cuantitativa diagnóstica *in vitro* de la tiroxina libre (FT₄) en suero o en plasma.

PRINCIPIOS DE *ELEGANCE* ELISA

El *ELEGANCE* ELISA FT₄ es un enzimo-inmunoensayo que incorpora un anticuerpo monoclonal anti-T₄ (Reactivo anticuerpo) y un anticuerpo monoclonal anti-IgG de ratón unido a los micropocillos. Es un método en dos pasos ("titración inversa"), que utiliza T₄ conjugada con la peroxidasa del rábano (T₄-HRP) para producir la señal generada. Durante la incubación se forman complejos entre los anticuerpos y el antígeno de la muestra. Los micropocillos se lavan para eliminar cualquier material no unido. Se adiciona T₃-HRP (reactivo conjugado) y se une a los sitios de unión del anticuerpo monoclonal no ocupados por el antígeno. 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.

FT₄: Micropocillos recubiertos 96 pocillos REF # T4A96

Marco con micropocillos recubiertos con anticuerpo anti-IgG de ratón. Lista para usar.

FT₄: Reactivo anticuerpo 1 ampolla REF # T4B96

10 ml de anticuerpo anti-T₄ de ratón en una solución tampón con suero animal y tintura azul. Contiene azida sódica 0,1% p/v. Lista para usar.

FT₄: Reactivo conjugado 1 ampolla REF # T4C96

10 ml T₄-HRP conjugada en una solución tampón con 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 15 x. Con tiomersal, 0,09% p/v. A 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.

FT₄: Calibradores

6 ampollas REF # ET4S1-6

0,25 ml cada una en suero humano. Contiene azida sódica. 0,1% p/v. Lista para usar.

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 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 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. 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 usarse.

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 usada dentro de los 30 minutos anteriores a su preparación.

Calibradores

Mezcle las ampollas por inversión suave. Cada concentración exacta determinada lote a lote se establece en un rótulo separado dentro del kit. 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 25 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 100 µl de reactivo anticuerpo anti-FT₄ (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 conjugado FT₄ (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.
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.

CALIBRACIÓN

Se usó diálisis por equilibrio para calibrar los calibradores proporcionados en este kit que se rotulan en pmol/l. La conversión de las unidades del calibrador pueden realizarse mediante la siguiente relación:

$$\text{ng/dl FT}_4 = \text{pmol/l FT}_4 \times 0.078$$

LIMITACIONES

Las muestras de suero que muestran hemólisis, lipemia evidente o turbidez pueden dar resultados falsos. Evite las muestras tratadas con calor que pueden dar valores elevados de FT₄ debido a desnaturalización de proteínas de unión y alteraciones del equilibrio entre T₄ libre/unida. Las muestras de pacientes con elevado nivel circulante de anticuerpos anti-ratón como resultado del tratamiento con anticuerpo monoclonal anti-ratón puede dar niveles falsamente elevado o deprimidos. Estas muestras no deben ser analizadas con este kit.

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 H₂SO₄ en todos los pocillos en la misma secuencia medida que la adición de la solución sustrato.

12. Llevar a cabo la lectura del criterio de valoración a 490 nm y datos del proceso como se describe en el manual del usuario del lector de microplata. 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 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 pmol/l FT₄. El intervalo del ELEGANCE FT₄ ELISA es de 0 a 125 pmol/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	FT ₄ (pmol/l)
0	2.774	
4.99	2.412	
10.7	2.203	
25.7	1.650	
58.8	1.228	
125	1.036	
Muestra 1	2.446	5.38
Muestra 2	1.442	37.30
Muestra 3	1.092	93.80

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:

Muestras eutroideas	n = 159
Valor medio	6.2 pmol/l
Intervalo de valores obtenidos	9.3 - 24.9 pmol/l
Intervalo de referencia	10.7 - 21.7 pmol/l

CARACTERÍSTICAS DE REALIZACIÓN

Precisión Intra-prueba

Muestra	n	Media ± 2SD (pmol/l)	%CV
1	14	7.3 ± 1.4	9.6
2	14	14.8 ± 1.6	5.4
3	14	40.4 ± 2.1	2.6

Precisión Inter-prueba

Muestra	n *	Media ± 2SD (pmol/l)	%CV
1	40	6.5 ± 1.9	14.6
2	40	17.8 ± 2.7	7.6
3	40	41.2 ± 4.5	5.5

* duplicado

Especificidad

Análito	% Reacción cruzada
D-tiroxina	0.50
L-3,3',5-triiodotironina (T ₃)	<0.01
L-3,3',5-triiodotironina (rT ₃)	<0.01
L-3,5-diyodotirosina (DIT)	<0.01
Salicilato sódico	<0.01
O-ácido acetilsalicílico	<0.01
Metimazol	<0.01
Fenilbutazona	<0.01
5,5-difenilhidantoína	<0.01

Sensibilidad

La sensibilidad del ensayo es típicamente menor que 2 pmol/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, bilirubina hasta 10 mg/dl, triglicéridos hasta 970 mg/dl y ácidos grasos no esterificados hasta 4 mmol/l.

INFORMACIÓN PARA PEDIDOS

El KIT ELISA FT₄ 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

Nº PARTE: EKB4S Ed. 7 Fecha de revisión: 17 Piedad 2009