





ELEGANCE KIT ELISA NEONATAL TSH

REF 40 450480 **REF** 40 452400
 480  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 reembolso 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



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 TSH ELISA** ha sido creado para la medición diagnóstica cuantitativa *in vitro* del la hormona estimulante de la tiroides (TSH) en la sangre humana neonatal (spot test).

PRINCIPIOS DEL

ELEGANCE ELISA

El **ELEGANCE ELISA** es un enzimo-inmunoensayo. La TSH es eluida del spot de sangre y, al mismo tiempo, se ata al anticuerpo anti-TSH presente en el pocillo. El antígeno de la muestra se ata sea al primer anticuerpo unido a las paredes del pocillo, sea al anticuerpo biotinilado del reactivo (técnica sandwich). Se efectúa un lavado de los pocillos para quitar cualquier material no atado. Se añade la estreptavidina peroxidasa (Reactivo Amplificador) que forma enlaces múltiples con el anticuerpo biotinilado. Después del lavado, la solución de sustrato reacciona con cualquiera peroxidasa 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 deben almacenarse a 2-8°C hasta la fecha de caducidad indicada.

Neonatal TSH:

Pocillos recubiertos

1 x 96 pocillos REF # TNA96
5 x 96 pocillos REF # TNA5
(25 x 96 pocillos REF # TNA25)

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

Neonatal TSH:

Reactivo Anticuerpo

1 ampolla REF # TNB480
(1 ampolla REF # TNB25)

50 (250) ml de anticuerpo biotinilado anti-TSH en una solución tampón que contiene albúmina de suero bovino, sueros animales no inmunes y un colorante azul. Contiene azida de sodio, 0.2% p/v y thiomersal, 0.01% p/v.

Listo para el uso.

Neonatal TSH:

Reactivo Amplificador

1 ampolla REF # TNP480
(1 ampolla REF # TNP25)

50 (250) ml de estreptavidina peroxidasa (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% p/v. Listo para usar.

Concentrado de Lavado

1 ampolla REF # EWC5
(2 ampollas REF # EEB25)

250 (500) ml de solución de lavado 15 x concentrada. Contiene thiomersal, 0.09% p/v. Diluir antes de utilizar.

Tampón de Elución

1 ampolla REF # EEB5
(1 ampolla REF # EEB25)

50 (250) ml de solución tampón que contiene albúmina de suero bovino. Contiene azida de sodio, 0.1% p/v. Lista para usar.

Solución Sustrato

TMB H

1 ampolla REF # ETMB5

(1 ampolla REF # ETMB25)

50 (250) ml 3,3', 5,5'-tetramethylbenzidine y peróxido de hidrógeno en solución estabilizadora.

Lista para usar.

Solución de para

1 ampolla REF # ESS5

(1 ampolla REF # ESS25)

30 (124) mL 1M H₂SO₄

Listo para usar.

Neonatal TSH:

Calibradores y Controles

de los Spot de sangre

1 set REF # ETNS6

(4 set REF # ETNS7)

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

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 infecciosas.

Agentes conservadores

El kit contiene los agentes conservadores siguientes: 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 Sustrato y

Solución de para

Evitar cualquier contacto con la piel.

RECOGIDA Y MANEJO DE LOS ESPECIMENES

El **ELEGANCE Neonatal TSH 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. Sin embargo la sangre del cordón se puede usar tras la validación del proceso. 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 fluyente 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 (20-25°C).

MATERIALES Y EQUIPOS REQUERIDOS QUE NO SE PROPORCIONAN

- * Agua destilada o desionizada
- * Cortadora mecánica de discos (3mm)
- * Pinzas
- * 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 no se puede llenar los pocillos con el Reactivo Amplificador o la Solución de Sustrato

inmediatamente después del lavado, entonces se pueden dejar las microplacas volcadas en un tejido sin hilachas por un máximo de 15 minutos (Reactivo Amplificador) y 60 minutos (Solución de Sustrato).

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 1:14 el concentrado de lavado con agua desionizada. La solución de lavado puede conservarse a temperatura ambiente (20-25°C) por 12 semanas.

Calibradores y Controles

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 almacenarlas 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. Por duplicado, poner discos de 3 mm de (los calibradores, los controles y espécimen) en los pocillos apropiados. Al cortar los discos de la muestra, mantenerse en el centro de la mancha evitando los bordes.

3. Pipetear 100 µl de Tampón de Elución (transparente) en todos los pozos.

4. Cubrir los pocillos con la tapa e incubar durante 60 minutos en un agitador de placa a temperatura ambiente (20-25°C).

5. Pipetear 100 µl Reactivo Anticuerpo anti-TSH neonatal (azul) en todos los pocillos.

6. Cubrir los pocillos con la tapa e incubar durante 60 minutos en un agitador de placa a temperatura ambiente (20-25°C).

7. Después de la incubación, quitar los discos.

8. 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.

9. Pipetear 100 µl de Reactivo Amplificador TSH Neonatal (violeta) en cada pozo.

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

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

12. 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.

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

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

15. 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 5 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. Interpolando los valores de la muestra utilizando la D.O. medida en esta curva de calibrado. Anotar el valor por cada muestra en mIU/l en sangre entera.

El ámbito del *ELEGANCE* Neonatal TSH va desde 0 hasta aproximadamente 250 mIU/l en 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	DO media	TSH (mIU/L)
0	0.038	
6.11	0.088	
11.3	0.163	
26.0	0.359	
96.0	1.345	
231	3.009	
Muestra 1	0.244	17.30
Muestra 2	0.955	66.90
Muestra 3	0.104	7.42

LIMITACIONES

Esta prueba no debe ser usada para detectar hipotiroidismo en quienes han sido trasfundidos o han estado en terapia con anticuerpos, o en recién nacidos prematuros.

CALIBRADO

Los calibradores y los controles proporcionados en este kit han sido preparados de sangre humana con un valor de hematocrito del 55% (v/v) y se expresan en mIU/l en sangre entera (WHO 1° IRP 68/38 para la TSH humana).

Se puede hacer una conversión de las unidades estándares utilizando la relación siguiente:

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

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 20 mIU/l en sangre entera. Muestras con medida inferior al cut-off positivo presunto se consideran normales. Los casos de hipotiroidismo congénito actuales por lo general miden al menos 40 mIU/l en sangre entera, pero han sido medidos también valores más bajos, como 25 mIU/l en sangre entera.

CARACTERÍSTICAS DE LA MEDIDA

Precisión Intra-serie

Muestra	n	media ± 2SD (mIU/L en sangre entera)	%CV
1	20	4.9 ± 0.57	5.8
2	20	14.5 ± 2.00	6.9
3	20	41.7 ± 3.20	3.8

Precisión Inter-serie

Muestra	n *	media ± 2SD (mIU/L en sangre entera)	%CV
1	11	6.1 ± 0.85	7.0
2	11	16.6 ± 2.10	6.3
3	11	37.8 ± 2.80	3.7

* cuadruplicado

Especificidad

Analita	Concentración ensayada	TSH aparente (mIU/L en sangre entera)	Xreactividad
LH	450 IU/L	<1	N.D
FSH	450 IU/L	<1	N.D
hCG	45,000 IU/L	<1	N.D
TSH	57.4 mIU/L	56.8	99%

Exactitud

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

Muestra	TSH observado (mIU/L)	TSH esperado (mIU/L)	% recuperación
1	16.4	16.9	97.0
2	21.8	23.0	94.8
3	64.7	63.1	102.5

Dilución

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

Muestra	TSH observado (mIU/L s.e.)	TSH esperado (mIU/L s.e.)	% recuperación
No diluido	33.2		
1/2	16.7	16.6	100.6
1/4	8.8	8.3	106.0
1/8	4.5	4.2	107.1

High-dose Hook Effect

No se ha encontrado efecto Hook, característico de estos ensayos, en las pruebas de muestras con valores de TSH superiores o iguales al límite del test de 4700 mIU/l en sangre entera.

Sensibilidad

La sensibilidad del test normalmente es inferior a 1 mIU/l en sangre entera. Se llama "sensibilidad" la concentración de analito que corresponde a la dosis-respuesta variable (D.O.) que es dos desviaciones estándar mayor que la media de la dosis-respuesta variable de 28 determinaciones repetidas del calibrador cero efectuadas en tres ensayos diferentes.

INFORMACIÓN PARA PEDIDOS

El *ELEGANCE* NEONATAL TSH ELISA es fabricado por:

Bioclone Australia Pty Limited,
71-73 Railway Parade, Marrickville, NSW 2204, AUSTRALIA.
Teléfono +61 (0) 2 9517 1966 Freecall 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 Freecall 1800 251 138

PART No.: EKBTNS Ed. 10 Fecha de rev.: 18 Septiembre 2010