



BIOCLONE

KIT SUBUNIDAD α - GLICOPROTEINA LIBRE

IRMA

REF 20 222050

REF 20 222500

Σ 50

Σ 500

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 Número Verde: 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 kit IRMA subunidad α -Glicoproteína Libre ha sido creado para la medición diagnóstica cuantitativa *in vitro* de la subunidad α de las hormonas glicoproteínicas libre en suero o en plasma.

PRINCIPIOS DEL IRMA

El IRMA es un ensayo inmunoradiométrico de doble anticuerpo.

El antígeno de la muestra se ata (técnica "sandwich") sea al anticuerpo marcado con yodo 125 (¹²⁵I) sea al anticuerpo atado a las partículas de poliestireno magnetizable (Fase sólida). Después de la incubación, el "sandwich" resultante se deja sedimentar, después se elimina el sobrenadante y se lava para eliminar el trazador radioactivo no atado. Los tubos que contienen el "sandwich" sedimentado se miden luego con un contador gama. La concentración del analito es directamente proporcional a la radioactividad atada del "sandwich". Los cálculos de los calibradores se ponen en un gráfico y los valores de las muestras se pueden leer en la curva de calibrado construida.

REACTIVOS SUMINISTRADOS, ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Tamaño del kit - 50 test y 500 test (entre paréntesis). El kit y todos sus componentes, nuevos o ya abiertos, deben ser almacenados a 2-8°C hasta las fechas de caducidad indicadas.

Free α -Glycoprotein Subunit: Trazador

1 vial REF # AGI1
(1 vial REF # AGI260)

27 (260) ml que contienen anticuerpo anti-subunidad α -glicoproteína libre marcado con ¹²⁵I (9.6 μ Ci/96 μ Ci) en tampón BSA PBS, suero animal no inmune y un colorante naranja. Contiene azida de sodio, 0.1% p/v. Listo para utilizar.

Free α -Glycoprotein Subunit: Fase sólida

1 vial REF # AGA1
(1 vial REF # AGA260)

27 (260) ml que contienen anticuerpo anti-subunidad α -glicoproteína libre atado a partículas de poliestireno magnetizable en tampón BSA PBS y un colorante azul. Contiene azida de sodio, 0.1% p/v. Resuspender suavemente antes de utilizar.

Concentrado de lavado

1 vial REF # CGW1
(2 viales REF # CGW1)

10 ml de solución de lavado 15 x concentrada. Contiene azida de sodio, 1.5% p/v. Diluir antes de utilizar.

Free α -Glycoprotein Subunit:

Calibradores

7 viales REF # AGS1-7

(14 viales REF # AGS1-7)

1.0 ml cada uno, en suero humano. Contiene azida de sodio, 0.1% p/v. Listos para utilizar.

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 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.

Material radioactivo

El trazador contiene material radioactivo.

RECOGIDA Y MANEJO DE LOS ESPECÍMENES

No se necesita ninguna preparación especial del paciente. Las muestras pueden ser de suero o plasma, recogidas en modo apropiado para el análisis. El suero es preferible, pero el anticoagulante heparina o el EDTA se pueden utilizar sin sacrificar la exactitud.

Evitar las muestras con exceso de hemólisis, lipemia o turbias. Las muestras se pueden almacenar a 2-8°C hasta 48 horas. Por periodos más largos, las muestras se deben conservar a una temperatura de -20°C o inferior. No congelar y descongelar repetidamente las muestras.

Averiguar en las muestras descongeladas la presencia de materia flocculenta y mezclarlas por inversión justo antes de la prueba. Las muestras turbias o que contienen partículas se deben centrifugar antes del uso.

MATERIALES Y EQUIPOS REQUERIDOS QUE NO SE PROPORCIONAN

- * Agua destilada o desionizada
- * Tubos de plástico desechables para análisis 12 x 75 mm
- * Pipetas de precisión
- * Pipetas repetidoras
- * Agitador para Vortex
- * Timer
- * Racks magnéticos o centrifugadora refrigerada capaz de 1500 x g
- * Papel de filtro
- * Contador gama

NOTAS DE PROCEDIMIENTO

Llevar a temperatura ambiente (20-25°C) todos los reactivos y las muestras y mezclarlos suavemente por inversión antes del uso.

No utilizar un agitador magnético para resuspender la fase sólida del reactivo. 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.

Las muestras sospechadas de tener una concentración superior a la del calibrador más alto se deben diluir en el calibrador cero antes de la prueba.

Todas las etapas del ensayo deben realizarse sin interrupción.

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 contador gama y todas las pipetas para utilizar.

Lavado

La eficacia de la operación del lavado es vital para una buena precisión.

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 6 meses.

Calibradores

Las concentraciones exactas determinadas para cada lote están declaradas en una etiqueta separada, presente en el interior del kit. Los calibradores se deben almacenar a -20°C.

Protocolo

1. Por duplicado, preparar y contraseñar los tubos necesitados en base al número de test a efectuar. Incluir los Cálculos Totales (TC), los calibradores, los controles y las muestras de los pacientes.
2. Pipetear 50 μ l de muestra (calibrador, control, espécimen) en duplicado en los tubos apropiados.

3. Resuspender la Fase Sólida de la subunidad α - glicoproteína libre (azul-verde) turbinando y con múltiples inversiones del contenido de la botella hasta que ya ningún sedimento sea visible en el fondo - no agitar con fuerza este reactivo.
4. Pipetear 500 μ l de Trazador de la subunidad α -glicoproteína libre (amarillo) en todos los tubos. Poner de lado los tubos TC.
5. Pipetear 500 μ l de Fase Sólida de la subunidad α -glicoproteína libre (azul-verde) en todos los tubos, menos en los TC.
6. Agitar los tubos suavemente, luego incubarlos durante 1 hora a temperatura ambiente.
7. La separación del "sandwich" del anticuerpo marcado no atado puede ser concluida usando la separación magnética o la centrifugación.
 - A. *Separación magnética.*
 - a) Poner los tubos en el rack de separación magnética y asegurarse que todos los tubos están en contacto con la base magnética. Dejarlas por 15 minutos. Se puede mejorar la precisión aumentando el tiempo de sedimentación a 20 minutos.
 - b) Después de la separación, no quitar el rack de la base de apoyo magnética. Descartar el sobrenadante invirtiendo los tubos (sin quitar la base magnética) y dejarlos escurrir sobre papel de filtro por cartados minutos.
 - c) Quitar el rack de su base de apoyo magnética. Lavar los tubos añadiendo en todos 500 μ l de solución de lavado. Agitar, dejar sedimentar en la base magnética, vaciar el sobrenadante y secar como arriba.

O BIEN

B. Centrifugación

- a) Centrifugar todos los tubos durante 5 minutos a 1500 x g en una centrifugadora refrigerada a 4°C. Descartar el sobrenadante y dejar escurrir los tubos en el papel de filtro por 2 minutos.
- b) Lavar los tubos añadiendo 500 μ l de solución de lavado en cada uno de ellos. Agitar, centrifugar, vaciar el sobrenadante y secar como arriba.
8. Medir todos los tubos por un minuto utilizando un contador gama. Anotar el cpm de cada tubo.
9. Calcular los resultados.

VALORES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propia escala de referencia basada en una población-testigo representativa. El range de referencia siguiente se ha obtenido analizando muestras de suero procedentes de individuos sanos y se proporciona sólo como ejemplo:

Mujeres adultas	
en premenopausia	0.1 - 0.5 IU/l
en postmenopausia	0.6 - 1.5 IU/l
Hombres adultos	
	0.1 - 0.5 IU/l

CARACTERÍSTICAS DE LA MEDIDA

Precisión Intra-serie

Muestra	n	Media \pm 2SD (IU/l)	%CV
1	20	0.35 \pm 0.18	5.1
2	20	3.03 \pm 0.11	3.9
3	20	37.40 \pm 1.29	3.5

Precisión Inter-serie

Muestra	n *	Media \pm 2SD (IU/l)	%CV
1	20	0.38 \pm 0.02	5.3
2	20	2.87 \pm 0.15	5.2
3	20	32.50 \pm 1.30	4.0

* duplicado

Especificidad

Analito	Concentración ensayada	α GP aparente (IU/l) resultados
LH	250 IU/l	1.80
FSH	250 IU/l	0.53
TSH	250 mIU/l	0.39

Exactitud

La recuperación analítica ha sido calculada ensayando antes y después de la adición de analito exógeno (x). 25 μ l de muestra X han sido añadidos a 25 μ l de cada calibrador.

Muestra	α GP (IU/l) observado	α GP (IU/l) esperado	Recuperación %
x (50 μ l)	1.46		
x (25 μ l) + 25 μ l	0	0.74	101
	0.1	0.77	99
	0.5	1.07	109
	2.5	2.00	101
	5.0	3.30	102
	25	14.00	106
	100	50.00	98

Dilución

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

Muestra	α GP (IU/l) observado	α GP (IU/l) esperado	% Recuperación
No diluido	85.9		
1/2	44.5	42.9	104.0
1/4	21.4	21.5	99.6
1/8	10.1	10.7	94.0
1/16	5.2	5.3	97.0

High-dose Hook Effect

Por el efecto Hook en los altos valores, característico de los ensayos inmunoradiométricos, las muestras con valores superiores a 12,000 IU/l pueden producir resultados aberrantes, inferiores a los del calibrador más alto del kit. Estas muestras deben ser diluidas en el calibrador cero y reensayadas.

Sensibilidad

La sensibilidad del ensayo es típicamente inferior a <0.03 IU/l.

Se define "sensibilidad" la concentración de analito que corresponde a la variable dosis-respuesta (cpm) que dista dos desviaciones estándar de la media de la variable dosis-respuesta de 10 determinaciones repetidas del análisis del calibrador cero en tres pruebas diferentes.

Interferencia

No se ha observado ninguna interferencia con la recuperación del analito con concentraciones de hemoglobina superiores a 250 mg/dl, bilirrubina superior a 10 mg/dl y triglicéridos superiores a 970 mg/dl.

INFORMACIÓN PARA PEDIDOS Y SERVICIO TÉCNICO

El FREE α -GLYCOPROTEIN SUBUNIT es fabricado por:

Bioclone Australia Pty Limited,
71-73 Railway Parade, Marrickville, 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.: KBAGPS Ed 7

Fecha de revisión: 1 Junio 2008

CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

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

1. Determinar el cpm (count per minute) medio por los tubos duplicados.
2. Trazar la curva de calibrado en papel semi-logarítmico o logarítmico usando uno de los métodos siguientes:

Método 1

Utilizar la fórmula siguiente para calcular la %B/T:

$$\%B/T = \frac{\text{cpm (muestra)}}{\text{cpm TC}} \times 100$$

Trazar la %B/T en el eje y mientras que en el eje x se encuentran las concentraciones de los calibradores establecidas.

Método 2

Trazar los cpm en el eje y y mientras que en el x se encuentran las concentraciones de los calibradores establecidas.

3. Leer los valores de las muestras directamente de la curva de calibrado, en IU/l.

EJEMPLO DE CÁLCULOS

ID	cpm medio	%B/T	α hCG IU/l
TC	231940		
0	195	0.08	
0.1	458	0.19	
0.5	2312	1.00	
2.5	9356	4.03	
5.0	16407	7.07	
25	58774	25.34	
100	110846	47.79	
Muestra 1	1753	0.76	0.39
Muestra 2	10259	4.42	2.50

CALIBRADO

Los calibradores proporcionados en este kit están calibrados y expresados en IU/l por referencia con el estándar 1° IRP para la α hCG 75/569.

LIMITACIONES

Las muestras de suero con importante hemólisis, lipemia o turbiedad pueden dar falsos resultados. Las muestras que contienen una radioactividad de fondo valorable no deben ser utilizadas. Toda muestra sospecha debe ser controlada frente a la radioactividad antes de efectuar la prueba y, en caso de que haya radioactividad, debe ser alejada hasta decaimiento de la misma, o bien hay que pedir una nueva muestra.