





BIOCLONE

# KIT ALS RIA

**REF** 10 ALS50  
 50

**REF** 10 ALS100  
 100

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 Llamada gratuita 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 ALS RIA ha sido creado para la detección cuantitativa en el diagnóstico *in vitro* de ALS (subunidad ácido lábil), en el suero o en el plasma.

## PRINCIPIOS DEL RIA

El RIA es un sistema de ensayo inmunoradiométrico con doble anticuerpo. El analito en muestras diluidas y calibradas reacciona con el anticuerpo marcado <sup>125</sup>I ligándose a una cantidad constante de anticuerpo. Se utiliza un segundo anticuerpo acoplado a partículas de poliestireno magnetizables (Reactivo de Separación) para separar el anticuerpo ligado del anticuerpo libre marcado <sup>125</sup>I. Seguido a la sedimentación, el agua sobrenadante se elimina; se efectúa el recuento de los enlaces radioactivos de la bolita mediante un contador gamma. La concentración del analito es inversamente proporcional a los enlaces radioactivos de la bolita. Se extrapolan los recuentos de los calibradores y se leen las muestras a partir de la construcción de la curva del calibrador.

## REACTIVOS ENTREGADOS. ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN

Tamaño del kit - 50 pruebas y 100 pruebas (entre paréntesis). El kit y todos sus componentes, no abiertos o abiertos, deben conservarse a 2-8°C hasta la fecha de caducidad indicada.

## ALS: Marcador

**1 ampolla REF # ALI1**  
**(1 ampolla REF # ALI2)**  
 5,5 (10,5) ml ALS ( $\leq 40\mu\text{Ci}$ ) marcado <sup>125</sup>I en solución tampón BSA PBS con tinte roja.

Contiene azida de sodio, (NaN<sub>3</sub>), 0,1% p/v. Listo para utilizar.  
**ALS: Antisuero**  
**1 ampolla REF # ALA1**  
**(1 ampolla REF # ALA2)**  
 5,5 (10,5) ml con antisuero de conejo ALS diluido en solución tampón BSA PBS y con una tinte azul. Contiene NaN<sub>3</sub>, 0,1% p/v. Listo para utilizar.

## Reactivo de Separación

**1 ampolla REF # SEP1**  
**(1 ampolla REF # SEP2)**  
 13 (26) ml contiene anticuerpo de cabra anti-conejo acoplado a partículas de poliestireno magnetizables en una solución tampón de BSA PBS. Contiene NaN<sub>3</sub>, 0,1% p/v. Homogeneizar suavemente antes de utilizarse.

## ALS: Calibradores

**1 ampolla REF # ZC1**  
**(1 ampolla REF # ZC2)**  
 25 (50) ml cada una de Calibrador A (0 nmol/l concentrado), contiene 4 x solución tampón concentrada de BSA PBS. Contiene NaN<sub>3</sub>, 0,4% p/v. Diluir antes de utilizarse.

**5 ampollas REF # ALS2-6**  
 1,0 ml cada una de Calibrador B-F en solución tampón de BSA PBS. Contiene NaN<sub>3</sub>, 0,1% p/v. Liofilizado.

## ALS: Controles

**2 ampollas REF # ALC1-2**  
 1,0 ml cada una en solución tampón de BSA PBS. Contiene NaN<sub>3</sub>, 0,1% p/v. Liofilizado.  
**No diluir.**

## PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS A LOS USUARIOS

La manipulación de las muestras y de los componentes del kit, su uso, su conservación y su eliminación deben desarrollarse conforme a los procedimientos y a las normas locales o nacionales para la seguridad en el trabajo de laboratorio.

## Muestras, Calibradores y Controles.

El material de origen 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 comprobó que no es reactivo a ninguno de ellos. De todos modos, se recomienda que todas las muestras se manipulen como si fueran capaces de transmitir una enfermedad infecciosa.

## Conservantes

El kit contiene azida de sodio como conservante. Ya que los reactivos contienen conservantes potencialmente tóxicos, durante su manipulación hay que tener cuidado en 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 marcador contiene material radioactivo.

## OBTECCIÓN DE LAS MUESTRAS Y MANIPULACIÓN

No se requiere una preparación especial del paciente. Las muestras, pudiendo ser suero o plasma, deben colectarse de un modo apropiado para las pruebas de laboratorio. Es preferible suero; de todas maneras, pueden emplearse el anticoagulante heparina o EDTA, sin comprometer la precisión. Evitar muestras fuertemente hemolíticas, lipídicas y turbias. Las muestras pueden conservarse a 2-8°C hasta 48 horas. Las muestras conservadas durante más tiempo deben guardarse a, o por debajo de, -20°C. Las muestras no se deben congelar y descongelar repetidamente. En las muestras descongeladas debe controlarse la presencia de materia floculada y hay que mezclar por inversión justo antes de analizarlas. Las muestras turbias o aquellas que contengan partículas deben centrifugarse antes de utilizarlas.

## MATERIALES Y EQUIPO REQUERIDOS NO INCLUIDOS

- \* Agua destilada o desionizada
- \* Tubos de plástico desechables para test, con tapas de 12 x 75 mm
- \* Pipetas de precisión
- \* Pipeta repetidora
- \* Mezclador Vortex
- \* Tabla Rodillo

- \* Timer
- \* Estante Magnético o centrifugadora refrigerada con capacidad de 1500 x g
- \* Papel absorbente
- \* Contador Gamma

## NOTAS DE PROCEDIMIENTO

Llevar todos los reactivos y las muestras a temperatura ambiente (20-25°C) y mezclar suavemente por inversión antes de utilizarlos. Se recomienda trabajar por duplicado. La contaminación de los reactivos lleva a una ejecución de calidad inferior. Debería realizarse una curva de calibrador por cada ensayo. [ > Calibrador primero, ser diluido en el cero.] Todas las etapas del ensayo deben realizarse sin interrupción. Los reactivos están emparejados en cada kit, por consiguiente no deben mezclarse reactivos con número de lote diferentes.

Antes de utilizarlos, hay que calibrar correctamente el contador gamma y todas las pipetas.

## Control de calidad

Para garantizar un procedimiento correcto, hay que efectuar un control de las muestras en cada ensayo. Para la aprobación del ensayo, los valores de control deben situarse dentro de los valores límites de laboratorio.

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

### Preparación de los Reactivos Calibradores y Controles

Para reconstituir los calibradores y los controles liofilizados, añadir el volumen de agua desionizada indicado en la etiqueta de cada ampolla. Dejar que las ampollas se asienten, sin tocarlas, hasta su completa disolución (como mínimo 30 minutos) y a continuación mezclar suavemente mediante inversión.

Después de la reconstitución, los calibradores y los controles deben conservarse a -20°C.

### Procedimiento de Disolución Calibrador A

**0 nmol/l Concentrado**  
 Diluir Calibrador A 1 en 4 con agua desionizada. Si el Calibrador A se cristaliza, calentar a 37°C. La solución de Calibrador A se utiliza también como diluyente de muestra y debe conservarse a 2-8°C hasta la fecha de caducidad indicada.

### Preparación de la muestra

Muestras (no calibradores/controles) deben diluirse 1 en 200.

1. Poner etiqueta en los tubos de dilución (1 por muestra)
2. Pipetear 10µl de muestra, añada 1,99 ml de Calibrador A diluyente. Vortex.

### Reactivo de separación

Mezcle bien sobre una tabla rodillo antes de utilizarse.

### Protocolo

1. Junte los tubos de ensayo y póngales etiqueta por duplicado en función del número de pruebas requeridas. Incluido los tubos del Total del Recuento (TC), de las Uniones No-específicas (NSB), de los calibradores, de los controles/ muestras.
2. Pipetear 200 µl de Calibrador A por duplicado en los tubos NSB.

3. Pipetear 100 µl de muestra (calibrador, control/muestra) por duplicado en los tubos apropiados.
4. Pipetear 100 µl de Antisuero ALS (azul) en todos los tubos excepto en los NSB y TC.
5. Pipetear 100 µl de Marcador ALS (rojo) en todos los tubos.
6. Agitar suavemente con el Vortex e incubar toda la noche (16-24 horas) a temperatura ambiente estacionaria (20-25°C). La coloración de los tubos deberá ser roja excepto en los tubos NSB y TC.
7. Al final del periodo de incubación, pipetear 250 µl de Reactivo de Separación (mezclado a fondo) en todos los tubos excepto en los tubos TC y en el vortex. Apartar los tubos TC e incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente estacionaria (20-25°C).

**8a** Para separar el anticuerpo del marcador no-ligado, colocar los tubos de las pruebas en el estante magnético de separación y asegurarse que todos los tubos estén en contacto con la placa de base magnética.

**8b** No quitar el estante de la placa de base magnética. Decantar el sobrenadante y dejar la placa de base magnética volcada. Tapar firmemente los tubos sobre el papel absorbente y limpiar el borde para quitar todo residuo de sobrenadante.

**9.** Efectuar el recuento de los tubos durante un minuto utilizando el contador gamma. Prolongar el recuento durante más tiempo reduciría el error estadístico de calculo. Registrar el cpm de cada tubo.

**10.** Calcular los resultados.

### CALCULO DE LOS RESULTADOS

El calculo de los resultados puede realizarse manualmente, si no hay una reducción automática de datos. Los calibradores están establecidos para consentir una muestra de dilución de 1 a 200.

1. Determine el promedio cpm de los tubos por duplicado.
2. Trazar la curva del calibrador en un gráfico sobre papel semi-logarítmico o logarítmico-lineal utilizando el siguiente método:

Utilizar la siguiente formula para calcular el %B/T:

$$\%B/Bo = \frac{\text{cpm (Muestra)} - \text{cpm (NSB)}}{\text{cpm (Calibrador A)} - \text{cpm (NSB)}} \times 100$$

3. Trazar %B/Bo sobre el eje Y hacia las concentraciones expresadas por los calibradores.
4. Leer los valores de la muestra directamente extraídos de la curva del calibrador en nmol/l.

### MODELO DE CÁLCULOS

ID	Promedio cpm	%B/Bo	ALS (nmol/l)
TC	24059		
NSB	373		
0	11622	100.0	
10	10010	85.7	
30	8349	70.9	
100	5107	42.1	
300	5122	20.4	
1000	1276	8.0	
Controle 1	7130	63.4	49.0
Controle 2	3516	27.9	196.0
Muestras 1	5122	42.2	102.0

### CALIBRACIÓN

Los calibradores incluidos en este kit están calibrados con ALS altamente purificado (M.W.: 63,300; referenciado al análisis de amino ácido). Están medidos en nmol/l.

La conversión de las unidades del calibrador han de realizarse empleando la siguiente formula:

$$1,0\mu\text{g/ml ALS} = 15,8 \text{ nmol/l ALS}$$

### LIMITACIONES

Las muestras de suero que muestren fuerte hemólisis, lipemia o turbidez pueden falsear los resultados. No deberán utilizarse muestras con fuertes antecedentes de radioactividad. En toda muestra sospechosa deberá controlarse la radioactividad antes de realizar el ensayo; deberá detenerse el ensayo hasta que no decaiga la radioactividad, o deberá utilizarse otra muestra.

### VALORES ESPERADOS

Se recomienda cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia basado en una población testigo representativa. El siguiente intervalo de referencia fue obtenido con el ensayo de muestras de suero de individuos sanos y sólo se proporciona como guía:

Edad(Años)	n	Promedio	SD	Mediana	5°	95°
(Hombre & Mujer)					Porcentaje	Porcentaje
0	30	80.2	62.4	72.4	17.7	179
1 - 3	45	103.0	58.1	103.0	33.6	171
4 - 6	34	123.0	67.1	133.0	6.1	240
7 - 9	43	173.0	107.0	166.0	77.2	297
10 - 12	40	222.0	150.0	241.0	117.0	309
13 - 15	54	261.0	140.0	267.0	132.0	350
16 - 18	27	291.0	109.0	296.0	200.0	369
19 - 30	104	223.0	96.7	226.0	130.0	301
31 - 40	55	211.0	75.1	208.0	114.0	296
41 - 50	76	203.0	65.2	208.0	109.0	279
51 - 60	57	182.0	58.9	178.0	88.1	259
61 +	18	172.0	54.6	171.0	87.1	241

### CARACTERÍSTICAS DE REALIZACIÓN

#### Precisión Intra-prueba

Muestra	n	Media ± 2SD (nmol/l)	%CV
A	22	26.1 ± 1.4	5.0
B	22	48.5 ± 2.6	5.4
C	22	207.0 ± 5.8	2.8
D	22	488.0 ± 20.0	4.1

#### Precisión Inter-prueba

Muestra	n *	Media ± 2SD (nmol/l)	%CV
E	39	50.6 ± 2.1	4.2
F	39	104.0 ± 3.6	3.5
G	39	176.0 ± 6.9	3.9
H	39	208.0 ± 8.2	3.9
I	39	344.0 ± 16.7	4.9

\*doble

#### Especificidad

Análito	Concentración Analizada	ALS Aparente Resultado (nmol/l)
IGFBP-1	1000 ng/ml	indetectable
IGFBP-2	1000 ng/ml	indetectable
IGFBP-3	100 µg/ml	indetectable
IGF-I	4000 ng/ml	indetectable
IGF-II	4000 ng/ml	indetectable

#### Precisión

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

Muestra	ALS (nmol/l) Observada	ALS (nmol/l) Estimada	% Recuperación
1	57.6	55.4	104.0
2	75.3	73.8	102.0
3	296.0	292.0	101.3
4	580.0	568.0	102.1

#### Dilución

Una muestra fue diluida en calibrador cero; se analizó y se calculó la recuperación.

Muestra	ALS (nmol/l) Observada	ALS (nmol/l) Estimada	% Recuperación
Limpia	446.0		
1/2	242.0	223.0	109.0
1/4	116.0	112.0	104.0
1/8	59.1	55.8	106.0
1/16	25.9	27.9	92.8

#### Sensibilidad

La sensibilidad se define como aquella concentración de analito que corresponde a dos desviaciones estándar del promedio de la variable dosis de respuesta del calibrador cero (medido en 9 ensayos) típicamente inferior a 4 nmol/l. En términos de concentración actual de ALS, la sensibilidad es de 0,02 nmol/l.

#### Interferencia

No se ha observado interferencia con la recuperación del analito en concentraciones de hemoglobina hasta 250 mg/dl, de bilirubina hasta 10 mg/dl y de triglicérido hasta 970 mg/dl.

### INFORMACIÓN PARA PEDIDOS

El ALS RIA 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

Servicio técnico disponible llamando a Bioclone:

+61 (0) 2 9517 1966 o Llamada gratuita: 1800 251 138

PART No.:KBALSS Ed.4

Fecha de revisión: 21 Julio 2006