



KIT IGFBP-3 RIA

REF 10 095100

Σ 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 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 IGFBP-3 RIA ha sido creado para la medición diagnóstica cuantitativa *in vitro* de las IGFBP-3 (Insulin-like growth factor binding protein-3 o proteínas ligadoras del factor de crecimiento ins ulino-símil de tipo 3) en suero o en plasma.

PRINCIPIOS DEL RIA

El RIA es un ensayo inmunoradiométrico de dos anticuerpos. El analito compete con el anticuerpo trazador marcado con yodo 125 (¹²⁵I) atándose a una cantidad constante de anticuerpo. Un segundo anticuerpo/PEG complex es utilizado para separar el anticuerpo atado por el anticuerpo trazador libre marcado con yodo 125. Después de la centrifugación, se descarta el sobrenadante y el pellet que contiene la radioactividad atada se mide con un contador gama. La concentración del analito es inversamente proporcional a la radioactividad atada en el pellet. 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 - 100 test. El kit y todos sus componentes, nuevos o ya abiertos, deben ser almacenados a 2-8°C hasta las fechas de caducidad indicadas.

IGFBP-3: Trazador

1 vial REF # BPI1

11 ml de IGF-I marcado con ¹²⁵I atado en modo covalente a las IGFBP-3 (1μCi) en tampón BSA PBS y un colorante rojo. Contiene azida de sodio, 0.1% p/v. Listo para utilizar.

IGFBP-3: Antisuero

1 vial REF # BPA1

11 ml de antisuero de conejo anti-IGFBP-3 diluido en tampón BSA PBS y un colorante azul. Contiene azida de sodio, 0.1% p/v. Listo para utilizar.

Reactivo de precipitación

1 vial REF # SME1

53 ml de suero animal y polietilenglicol en tampón BSA PBS. Contiene Bronidox L 0.25% v/v.

Mezclar bien antes del uso.

IGFBP-3: Calibradores

1 vial REF # BPS1

50 ml cada uno de Calibrador A (0 μg/ml concentrado), que contiene una solución 4 x concentrada de tampón BSA PBS. Contiene azida de sodio 0.4% p/v. Diluir antes de utilizar.

5 viales REF # BPS2-6

1.0 ml cada uno de los Calibradores B-F en tampón BSA PBS. Contiene azida de sodio, 0.1% p/v. Liofilizado.

IGFBP-3: Controles

2 viales REF # BPC1-2

1.0 ml cada uno en tampón BSA PBS. Contiene azida de sodio, 0.1% p/v. Liofilizado.

No diluir.

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 infeccivas.

Agentes conservadores

El kit contiene azida de sodio y Bronidox L como agentes conservadores. 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 ESPECIMENES

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 con tapones 12 x 75 mm
- * Pipetas de precisión
- * Pipetas repetidoras
- * Tubo graduado de 100 ml
- * Agitador para microplacas
- * Timer
- * Centrifugadora refrigerada capaz de 2000 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.

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.

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.

Si la centrifugadora no alcanza al menos los 2000 x g, el pellet puede resultar inestable. En este caso hay que aumentar el tiempo de centrifugación.

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

Reactivo de precipitación

Mezclar bien antes de utilizar.

Calibradores y controles

Para reconstituir los calibradores liofilizados, añadir el volumen de agua desionizada indicado en la etiqueta de cada vial. Dejar tranquilos los viales hasta la disolución completa (al menos 30 minutos), luego mezclarlos suavemente por inversión. Las concentraciones exactas determinadas para cada lote están declaradas en una etiqueta separada, presente en el interior del kit. Después de la reconstitución, los calibradores y los controles se deben almacenar a -20°C.

Procedimiento de dilución

Calibrador A

0 μg/ml concentrado

Diluir 1 en 4 el calibrador A con agua desionizada. Si el calibrador A ha cristalizado, calentarlo a 37°C. Entonces se puede utilizar la solución del calibrador A como diluyente de la muestra y se puede conservar a 2-8°C hasta la fecha de caducidad indicada.

Preparación de la muestra

Las muestras (no los calibradores/controles) se deben diluir 1:199.

Las muestra escasas se pueden diluir 1:99, dividiendo estos valores por 2 cuando se calculan los valores del suero.

1. Contraseñar los tubos de dilución (1 por cada muestra)
- 2a. Por 1:99 - Pipetear 10μl de muestra, añadir 0.99 ml de diluyente 0 μg/ml.
- b. Por 1:199 - Pipetear 10μl de muestra, añadir 1.99 ml de diluyente 0 μg/ml.
3. Agitar.

Protocolo

- Por duplicado, preparar y contraseñar los tubos necesitados en base al número de test a efectuar. Incluir los Cálculos Totales (TC), el NSB (Non-Specific Binding), los calibradores, los controles y las muestras diluidas.
- Pipetear 200 µl de diluyente del calibrador 0 µg/ml en duplicado en los tubos NSB.
- Pipetear 100 µl de muestra (calibrador, control, espécimen diluido) en duplicado en los tubos apropiados.
- Pipetear 100 µl de antisuero anti-IGFBP-3 (azul) en todos los tubos, menos en los NSB y TC.
- Pipetear 100 µl de trazador IGFBP-3 (rojo) en todos los tubos.
- Agitar los tubos suavemente e incubar por una noche a temperatura ambiente (20-25°C, 16-24 horas). Todos los tubos deben ser violeta, exceptuados los NSB y TC.
- Después de la incubación, pipetear 500 µl de reactivo de precipitación bien mezclado en todos los tubos, menos los TC, y agitar. Poner de lado los tubos TC e incubar por 15 minutos a temperatura ambiente (20-25°C).
- Centrifugar todos los tubos por 20 minutos a 2000 x g en una centrifugadora refrigerada (4°C).
- Inmediatamente después de la centrifugación, descartar completamente el sobrenadante. Golpetear ligeramente los tubos sobre el papel de filtro y secar los bordes para eliminar todo residuo de sobrenadante.
- Medir los tubos por un minuto con un contador gama. Una medición más prolongada reduce el error estadístico de medición. Anotar los cpm de cada tubo.
- Calcular los resultados.

CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

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

Los calibradores están preparados para permitir una dilución de la muestra de 1:199.

- Determinar el cpm promedio por los tubos duplicados.
- Trazar la curva de calibrado en papel semi-logarítmico o logarítmico usando el método siguiente:

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

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

- Trazar la %B/T en el eje y mientras que en el eje x se encuentran las concentraciones de los calibradores.
- Leer los valores de las muestras directamente de la curva de calibrado, en µg/ml.

EJEMPLO DE CÁLCULOS

ID	cpm medio	%B/Bo	IGFBP-3 (µg/ml)
TC	7019		
NSB	113		
0	3311	100.0	
1	2798	84.0	
4	1798	52.7	
10	1123	31.6	
20	710	18.7	
60	413	9.4	
Muestra 1	951	26.1	12.9
Muestra 2	2087	61.7	2.9

CALIBRADO

Los calibradores proporcionados en este kit están calibrados en IGFBP-3 extremadamente purificadas.

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.

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:

Adultos normales	1.7 - 4.0 µg/ml
Media (n=103)	2.7 µg/ml

CARACTERÍSTICAS DE LA MEDIDA

Precisión Intra-serie

Muestra	n	Media ± 2SD (mg/ml)	%CV
1	10	4.0 ± 0.4	4.7
2	10	1.6 ± 0.2	6.0
3	10	3.9 ± 0.3	3.7
4	10	7.3 ± 0.4	2.6

n=álícuotas diluidas

Precisión Inter-serie

Muestra	n *	Media ± 2SD (mg/ml)	%CV
1	9	3.9 ± 0.2	6.1
2	9	1.4 ± 0.1	6.9
3	9	3.9 ± 0.3	8.5
4	9	6.8 ± 0.3	4.9

n=álícuotas diluidas, * duplicado

Especificidad

Analito	Concentración ensayada	IGFBP-3 aparente resultados
GH humano	50 ng/ml	no detectable
IGF-I	22 ng/ml	no detectable

Exactitud

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

Muestra	IGFBP-3 (µg/ml) observado	IGFBP-3 (µg/ml) esperado	% Recuperación
1	6.52	6.84	95.3
2	5.66	5.68	99.6
3	6.86	6.92	99.1

Dilución

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

Muestra	IGFBP-3 (µg/ml) observado	IGFBP-3 (µg/ml) esperado	% Recuperación
1/50	24.73	24.73	100.0
1/100	12.75	12.36	103.2
1/200	5.77	6.18	93.4
1/400	2.81	3.09	90.9
1/800	1.52	1.55	98.1

Sensibilidad

La sensibilidad, definida como aquella concentración de analito que dista dos desviaciones estándar de la media de la variable dosis-respuesta del calibrador cero (medida en 9 ensayos) es 0,7 µg/ml.

Según la concentración actual de IGFBP-3, la sensibilidad es 3.5 ng/ml.

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 IGFBP-3 RIA 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.: KBBPS Ed 8

Fecha de revisión: 13 Junio 2008