

Fabricado por: Omega Diagnostics LTD.
 Importado e Distribuído por: Kovalent do Brasil LTDA
 Rua Cristóvão Sardinha, 110, Jd. Bom Retiro, São Gonçalo, RJ.
 CEP: 24722-414
 CNPJ: 04842199/0001-56
 MS – nº 80115310148
 SAC: (21) 3907-2534 – sac@biosys.com.br
www.biosys.com.br



PATHOZYME® ElisaSure Artigo OD707

Para testes de desempenho das lavadoras de microplacas, leitoras de microplacas, pipetas manuais e automáticas em teste ELISA.

Armazenar de 2°C a 8°C. NÃO CONGELAR.

Somente para uso em diagnóstico *in vitro*.

INTRODUÇÃO

Instrumentos e Equipamentos são partes essenciais dos procedimentos de testes baseados em Microplacas. Seus desempenhos devem ser reproduzíveis dentro de parâmetros conhecidos entre períodos de manutenção e após reparo ou resultados irregulares através de métodos fáceis e convenientes.

O kit **Pathozyme ElisaSure** fornece a habilidade para testar todas as Lavadoras de Placas de Microtitulação, Leitoras de Microplacas, e dispositivos de pipetagem manual e automática.

O uso regular do kit de teste **Pathozyme ElisaSure** produzirá registros documentados evidenciando o desempenho do equipamento e auxiliará na detecção precoce de deficiências e auxiliará na solução de problemas incorporando quatro verificações de equipamentos separadas.

O monitoramento regular irá, no caso de encontrar resultados inesperados durante o teste da amostra, fornecer modos de comparação entre o desempenho atual e antiga e, através da incorporação dentro da programação de manutenção de laboratórios, fornece confiança no desempenho do equipamento.

USO PREVISTO

Pathozyme ElisaSure fornece os recursos para verificar a linearidade e precisão das Leitoras de Microplacas, a eficiência e reprodutibilidade das Lavadoras de Microplacas e a precisão de Pipetas manuais e automáticas.

PRINCÍPIO DO TESTE

Linearidade da Leitora de Microplaca:

Diluições do reagente de cor diluído são lidas no comprimento de onda adequado: 405, 450 ou 492 nm.

A linearidade e faixa das leitoras estão estabelecidas.

Precisão da Leitora de Microplaca e Teste da Lavadora de Microplaca:

Uma solução contendo HRP é adicionada nos micropoços e lida a 405, 450 ou 492 nm. Os micropoços são lavados. Na adição da Solução de Substrato (TMB), uma coloração será desenvolvida somente naqueles poços em que o HRP estiver presente. A reação é parada pela adição do Ácido Sulfúrico diluído e a absorbância é então medida a 405, 450 ou 492 nm. O nível de HRP restante é diretamente proporcional à intensidade da cor desenvolvida e à eficiência da Lavadora de Placa de Microtitulação.


Teste do Dispositivo de Pipetagem:

Diluições duplicadas de corante são preparadas e transferidas para os poços da Placa de Microtitulação e lidas no comprimento de onda adequado: 405, 450 ou 492 nm.

O grau de diferença nos níveis de DO Média e CV% são indicadores da reprodutibilidade do volume dispensado.

Não existem padrões Internacionais para esse teste.

CONTEÚDO

Placa de Microtitulação Poços quebráveis.		Ref OD061
Corante Conc Corante concentrado com proteínas estabilizadoras. (Vermelho)	12 x 8 poços x 1	1ml
Conj Conjugado IgG Anti-humano: IgG Anti-humano conjugado a Peroxidase de Rábano. Pronto para uso. (Roxo)		15 ml
Tampão Lav. 20X Tampão de Lavagem concentrado: Tampão a base de Tris contendo detergentes. (Incolor)		50 ml
Subs TMB Solução de Substrato: 3,3', 5,5' Tetrametil Benzidina em um tampão citrato. Pronto para uso. (Incolor)		15 ml
Soln Sol. Parada H2SO4 0.2M Solução de Parada: Ácido Sulfúrico diluído em água purificada. Pronto para uso. (Incolor)		15 ml
Folheto de Instrução e papel milimetrado Lin / Log		1 + 1

MATERIAL NECESSÁRIO NÃO FORNECIDO

Tubos de Teste
 Leitora de Microplaca
 Lavadora de Microplaca
 Dispositivo de Pipetagem
 Objetos de vidro do laboratório perfeitamente limpos.
 Água Purificada

PRECAUÇÕES

Os reagentes do **Pathozyme ElisaSure** não contém substâncias perigosas definidas pelos atuais regulamentos de Produtos Químicos do Reino Unido (Informação de Substâncias Perigosas e Embalagem para Fornecimento). Todos os reagentes devem, no entanto, serem tratados como potenciais riscos biológicos no uso e descarte.

O descarte final deve ser de acordo com a legislação local.

A Solução de Parada do **Pathozyme ElisaSure** é Ácido Sulfúrico diluído e é portanto corrosivo. Manipule com cuidado. Em caso de contato, lave cuidadosamente com água.

Os reagentes do **Pathozyme ElisaSure** contém 1% Proclin™ 300* como um conservante que pode ser tóxico se ingerido. Em caso de contato, lave cuidadosamente com água corrente e procure recomendação médica.

*Proclin™ 300 é uma marca comercial da ROHM & HAAS LTDA.

ARMAZENAMENTO

Os reagentes devem ser armazenados a temperatura de 2°C a 8°C.

A data de validade é o último dia do mês no rótulo do frasco e do kit. O kit terá seu desempenho dentro das especificações até a data de validade indicada no kit e componentes. Não use reagentes após a data de validade. A exposição do reagente à temperaturas excessivas deve ser evitada. Não expor diretamente à luz solar.

NÃO CONGELAR NENHUM DOS REAGENTES pois isso causará danos irreversíveis.

PREPARAÇÃO DO REAGENTE

Todos os reagentes devem estar à temperatura ambiente (20°C a 25°C) e misturados gentilmente antes de usar. Não produzir espuma.

Tampão de Lavagem:

Dilua o Tampão de Lavagem concentrado usando 1 parte do Tampão de Lavagem concentrado com 19 partes de água destilada. Para cada fileira de 8 poços quebráveis, prepare 25ml de Tampão de Lavagem diluído adicionando 1.25ml do Tampão de Lavagem concentrado em 23.75ml de água destilada. Prepare um novo Tampão de Lavagem diluído antes de executar cada análise. O Tampão de Lavagem é fornecido em quantidades suficientes para ativar o início das máquinas de lavagem automáticas.

LIMITAÇÕES DE USO

Os níveis determinados são fornecidos somente como um guia. Para níveis específicos de uma parte individual do equipamento ou configuração, por favor consulte o Manual de Instruções do Fabricante.

Esse produto não é uma substituição para a Calibração do Equipamento.

Não há nenhum protocolo de reutilização para esse produto.

FORMA DE TESTE RECOMENDADA

	TESTE		
	LINEARIDADE	PRECISÃO / LAVADORA	PIPETAS
PERÍODO	Uma vez por mês	Uma vez por semana	Uma vez a cada 2 semanas
MATERIAIS		2 fileiras	
	2 fileiras		1 fileira
TOTAL	2 fileiras / mês	8 fileiras / mês	2 fileiras / mês

LINEARIDADE DA LEITORA DE MICROPLACA PROCEDIMENTO DO TESTE

É recomendado que seja realizado todo mês, no caso de encontrar resultados inesperados durante o teste da amostra ou após reparo ou manutenção.

1. Traga todos os componentes do kit à temperatura ambiente (20°C a 25°C) antes de iniciar o teste.
2. Prepare uma solução de Corante 1/10 adicionando 100µl de Corante Concentrado em 900µl de Água Purificada e misture bem.
3. Coloque uma fileira de poços no suporte.
4. As fileiras não usadas devem ser guardadas na embalagem de folha metálica contendo dessecante, utilizando a selagem zip-lock antes de ser recolocadas a 2°C to 8°C.

Com referência à Tabela abaixo:

5. Adicione 100µl de Água Purificada no Poço A e nos Poços de C a H.
6. Adicione 100µl de solução de Corante 1/10 no Poço B e Poço C.
7. Retire 100µl do Poço C e transfira para o Poço D e assim sucessivamente até o Poço H, realizando dessa forma uma diluição seriada.
8. Misture bem entre cada transferência.
9. Descarte o volume de 100µl restante na pipeta após o Poço H.
10. Zere a leitora de microplaca usando o Poço A.
11. Faça a medição da Densidade Óptica (DO) em 405, 450 ou 492 nm como apropriado.

Poço	Diluição do Corante	
	Repetição 1	Repetição 2
	Coluna 1	Coluna 2
A	Branco (Sem Corante)	Branco (Sem Corante)
B	1/10	1/10
C	1/20	1/20
D	1/40	1/40
E	1/80	1/80
F	1/160	1/160
G	1/320	1/320
H	1/640	1/640

CÁLCULO DOS RESULTADOS E VALORES ESPERADOS

Plote a DO versus diluição no papel milimetrado Lin / Log.

As Leitoras devem ser Lineares à DO 1.0 (consulte o Manual de Instruções dos Fabricantes).

Os dados obtidos devem ser relacionados contra os anteriores para monitorar a função do Equipamento.

A reprodutibilidade entre as fileiras em duplicata confirma a precisão da pipeta e método.

Consulte a Figura 1 no verso.

PRECISÃO DA LEITORA DE MICROPLACA E TESTE DA LAVADORA DE MICROPLACA

PROCEDIMENTO DO TESTE

É recomendado que seja realizado toda semana, no caso de encontrar resultados inesperados durante o teste da amostra ou após reparo ou manutenção.

1. Traga todos os componentes do kit à temperatura ambiente (20°C to 25°C) antes de iniciar o teste.
2. Coloque duas fileiras de poços no suporte.
3. As fileiras não usadas devem ser guardadas na embalagem de folha metálica contendo dessecante, utilizando a selagem zip-lock antes de ser recolocadas a 2°C to 8°C.

Com referência à Tabela abaixo:

4. Adicione 100µl de Conjugado em cada poço.
5. Zere a leitora de microplaca contra o ar.
6. Faça a medição da DO em 405, 450 ou 492 nm como apropriado. **Essas leituras são usadas para calcular a precisão da leitora de microplaca.**
7. Lave a placa quatro vezes com o tampão de lavagem dando batidas de leve para fora. (Reduzindo o número de lavagens aumentará a sensibilidade do teste – aumentando o número de lavagens diminuirá a sensibilidade do teste).
8. Adicione 100µl de Solução de Substrato (TMB) em cada poço.
9. Incube no escuro em temperatura ambiente (20°C a 30°C) por 10 minutos.
10. Adicione 100µl de Solução de Parada em cada poço.
11. Zere a leitora de microplaca contra o ar.
12. Faça a medição da DO de cada poço em 450nm **IMEDIATAMENTE. Essas leituras são usadas para calcular a eficiência da lavadora de microplaca.**
13. Se um filtro de referência entre 600 e 650 nm é utilizado, as leituras aparecerão artificialmente mais baixas.

Fileira	Coluna 1	Coluna 2
A		
B		
C		
D		
E		
F		
G		
H		

CÁLCULO DOS RESULTADOS E VALORES ESPERADOS

PRECISÃO DA LEITORA DE MICROPLACA

1. Calcule a DO Média a partir das leituras obtidas a partir do ponto 6 acima.
2. O valor esperado está entre 0.25 e 0.5.

3. O valor Médio para os testes seguintes não podem divergir >10%.
4. Calcule o Desvio- Padrão, divida pela Média e multiplique o resultado por 100. O dado resultante é o Coeficiente de Variação (CV%) CV's > 5% deve ser adicionalmente investigado. **Consulte a Figura 2.**

TESTE DA LAVADORA DE MICROPLACA

1. Use as leituras de Absorbância obtidas a partir do ponto 12 acima.
2. Leituras individuais > 0.10 indicam lavagem ineficiente.
3. Se as leituras estiverem acima desse limite o teste deve ser repetido e deve-se seguir os procedimentos de soluções de problemas do fabricante do equipamento. **Consulte a Figura 3.**

TESTE DO DISPOSITIVO DE PIPETAGEM

PROCEDIMENTO DO TESTE

É recomendado que seja realizado a cada duas semanas, no caso de encontrar resultados inesperados durante o teste da amostra ou após reparo ou manutenção.

Pipetagem Manual:

1. Traga todos os componentes do kit à temperatura ambiente (20°C a 25°C) antes de iniciar o teste.
2. Prepare uma solução de Corante 1/10 adicionando 10µl de Corante Concentrado em 90µl de Água Purificada e misture bem.
3. Coloque um mínimo de 8 poços no suporte.
4. As fileiras não usadas devem ser guardadas na embalagem de folha metálica contendo dessecante, utilizando a selagem zip-lock antes de ser recolocadas a 2°C to 8°C.
5. Adicione 90µl de Água Purificada em cada poço.
6. Adicione 10µl de solução de Corante 1/10 em cada poço.
7. Zere a leitora de microplaca contra o ar.
8. Faça a medição da absorbância em 405, 450 ou 492 nm como apropriado.

Pipetagem Automática:

1. Traga todos os componentes do kit à temperatura ambiente (20°C a 25°C) antes de iniciar o teste.
2. Submeta oito frascos cada um contendo uma amostra de solução de Corante Concentrada pura.
3. Coloque um mínimo de oito poços no suporte.
4. Instrua a pipeta automática para preparar diluições 1/100 usando Água Purificada.
5. Zere a leitora de microplaca contra o ar.
6. Faça a medição da absorbância em 405, 450 ou 492 nm como apropriado.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

1. Calcule as DO Médias para os pontos 8 e 6 acima.
2. Para ambas as séries de dados, calcule o Desvio- Padrão, divida pela Média e multiplique o resultado por 100.
 - a. Os dados resultantes são os Coeficientes de Variação (CV%).
 - b. Ambos os resultados devem ser menores que 5%.
 - c. A diferença entre os dois resultados deve estar dentro de 5%.
3. Os dados obtidos devem ser comparados com os anteriores para monitorar a variação por todo o tempo.

SOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Para uso de operadores com pelo menos um mínimo de treinamento básico em laboratório.

Não use componentes danificados ou contaminados do kit.

Use uma ponteira descartável separada para cada amostra para prevenir contaminação cruzada.

Recoloque as tampas em todos os reagentes imediatamente após o uso.

Evite pipetagem repetida do estoque de reagentes pois isso é provável que cause contaminação.

Não deixe o reagente escorrer pelos lados do poço.

Antes de iniciar o teste os reagentes deverão estar à temperatura ambiente (20°C a 25°C). Misture gentilmente todos os reagentes por inversão ou rotação.

Uma vez que o teste tenha sido iniciado, os poços não podem se tornar secos durante o teste.

Não contamine a Solução de Substrato (TMB) pois isso fará com que todo o kit seja inoperável.

As fileiras não usadas devem ser guardadas na embalagem de folha metálica contendo dessecante, utilizando a selagem zip-lock antes de ser recolocadas a 2°C to 8°C.

Para recomendações técnicas sobre configurações, soluções de problemas, calibração ou reparo relacionado a uma parte individual do equipamento, por favor, consulte o Manual de Instruções do Fabricante.

GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS

Seguir as disposições da resolução sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde bem como outras práticas de biossegurança equivalentes, revisão em vigor.

Nº de lote, data de fabricação e validade: vide rótulos dos frascos e do estojo

REFERÊNCIAS

(1) **Wild, D. (1994).** The Immunoassay Handbook. Editora Stockton, Nova York.

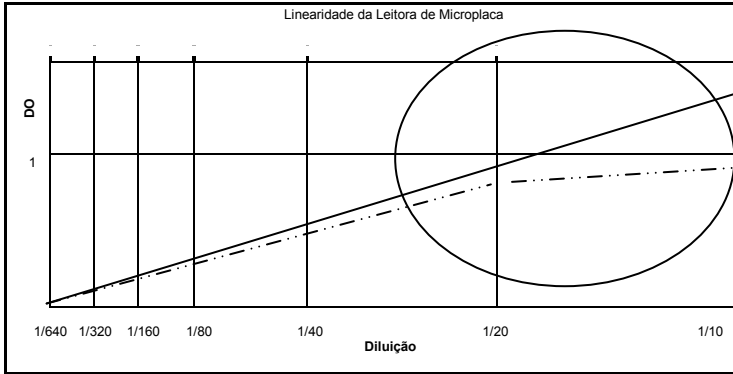
8150 ISSUE 2 Revisada em Abril 2009

© Omega Diagnostics Ltd 2009

Figura 1

EXEMPLO: Linearidade da Leitora de Microplaca

_____ Leitora A
 Leitora B



Resultados:

Leitora A - Linear a DO 1.0

Leitora B – Não Linear a DO 1.0

Figura 2

Precisão da Leitora de Microplaca (exemplo de resultados)

Fileira	DO			
	Leitora A		Leitora B	
A	0.431	0.417	0.430	0.424
B	0.435	0.427	0.613	0.625
C	0.425	0.420	0.620	0.613
D	0.418	0.421	0.426	0.419
E	0.429	0.418	0.419	0.416
F	0.415	0.422	0.422	0.429
G	0.414	0.430	0.418	0.412
H	0.425	0.433	0.427	0.417

Exemplo de interpretação de resultados:

Leitora A Aceitável – Média 0.423 DP 0.00639 CV% 1.51

Leitora B Não Aceitável – Média 0.470 DP 0.0851 CV% 18.11 (Maior do que 5%)

Observe as leituras Altas nas Fileiras B e C –
 Investigação necessária.

Figura 3

Teste da Lavadora de Microplaca (exemplo de resultados)

Fileira	DO			
	Lavadora A		Lavadora B	
A	0.045	0.042	0.043	0.039
B	0.042	0.040	0.041	0.042
C	0.047	0.040	0.041	0.045
D	0.045	0.043	0.145	0.139
E	0.044	0.045	0.140	0.142
F	0.042	0.041	0.042	0.039
G	0.044	0.047	0.039	0.040
H	0.047	0.044	0.044	0.043

Exemplo de interpretação de resultado:

Lavadora A Aceitável –

Lavadora B Não Aceitável – Observe as leituras Altas nas Fileiras D e E –
 Investigação necessária.



OMEGA DIAGNOSTICS LTD.
 Omega House, Hillfoots Business Village
 Alva FK12 5DQ, Escócia, Reino Unido
 odl@omegadiagnostics.co.uk
 www.omegadiagnostics.com

EMPRESA CERTIFICADA ISO 9001:2000 E ISO 13485:2003