



BIOCLONE

ELEGANCE

hCG ELISA KIT

REF 40 420096

Σ 96

DEUTSCH



GARANTIE

Der Hersteller gewährt keine andere Garantie außer der, dass der Diagnostikkit den betreffenden Analyten misst, wenn er gemäß der gedruckten Gebrauchsanweisung des Herstellers verwendet wird. Die Verwendung des Diagnostikkits für jeden anderen Zweck ist nicht Teil des Verwendungszwecks dieses Produktes und erfolgt auf Risiko des Benutzers. Der Hersteller lehnt alle vorausgesetzten Garantien hinsichtlich einer allgemeinen Gebrauchstauglichkeit, Verwendungstauglichkeit oder vorausgesetzten Verwendbarkeit für jeden anderen Zweck ab. Alle durch einen bei anweisungsgerechter Verwendung auftretenden Fehler des Diagnostikkits sind auf den Ersatzwert des Kits beschränkt. Die Garantie der Bioclone Australia Pty Limited und ihrer Vertriebshändler beschränkt sich ausschließlich auf den Umtausch des Produkts oder die Rückerstattung des Kaufpreises. Bioclone Australia Pty Limited haftet nicht für durch das Produkt verursachte Eigentumsbeschädigung, Körperverletzung oder wirtschaftlichen Verlust.

Hergestellt durch Bioclone Australia Pty Limited

(ein Tochterunternehmen der Hitachi Chemical Co., Ltd) ABN 14 002 036 071
71-73 Railway Parade Marrickville NSW AUSTRALIEN 2204

Tel +61 (0) 2 9517 1966 Fax +61 (0) 2 9517 2990 Befreien Sie Ruf 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

VERWENDUNGSZWECK

Der ELEGANCE hCG ELISA dient der quantitativen oder qualitativen *in vitro*-diagnostischen Bestimmung von humanem Choriongonadotropin (hCG) im Serum oder Plasma.

TESTPRINZIP

Dieser ELEGANCE ELISA basiert auf einem enzyme-linked Immunoassay-System. Die Antigenprobe wird "sandwichartig" zwischen den an den Mikrotiterstreifen gebundenen Antikörper und das biotinierte Antikörperreagenz eingelagert. Die Mikrotiterstreifen werden gewaschen, um jedes ungebundene Material zu entfernen. Streptavidinperoxydase (Amplifikationsreagenz) wird zugefügt und bindet sich an die biotinierten Antikörper in vielen Bindungsstellen. Nach dem Waschen reagiert die Substratlösung mit jeder gebundenen Peroxidase, um direkt proportional zur Anzahl der Probeantigene Farbe zu produzieren, die anhand der Kalibratorkurve berechnet (oder qualitativ mit positiver Referenz verglichen) werden kann.

MITGELIEFERTE ELEGANCE REAGENZIEN, STABILITÄT UND LAGERUNG

Kitgröße - 96 Tests. Der Kit und alle Komponenten sind ungeöffnet oder geöffnet bei 2-8°C innerhalb des angegebenen Verfalldatums zu lagern.

hCG: Beschichtete

Mikrotiterstreifen

96 Vertiefungen REF # CGA96
Rack, der Mikrotiterstreifen enthält, die mit anti-hCG Antikörper beschichtet sind. Gebrauchsfertig.

hCG: Antikörper Reagenz

1 Fläschchen REF # CGB96
10 ml biotiniertes anti-hCG Antikörper in einer gepufferten Lösung, die Rinderserumalbumin, Nichtimmuntierserum und blauen Farbstoff enthält. Enthält Natriumazid, (NaN₃), 0,2% w/v und Thiomersal, 0,01% w/v. Gebrauchsfertig.

hCG: Amplifikationsreagenz

1 Fläschchen REF # CGP96
10 ml Streptavidinperoxydase (Streptavidin von *S. avidinii*) in einer gepufferten Lösung, die Rinderserumalbumin und einen purpurroten Farbstoff enthält. Enthält Bronidox L, 0,2% v/v und Thiomersal, 0,02% w/v. Gebrauchsfertig.

Waschkonzentrat

1 Fläschchen REF # EWC96
50 ml einer 15fach konzentrierten Waschlösung. Enthält Thiomersal, 0,09% w/v. Vor Gebrauch zu verdünnen.

Substratpuffer

1 Fläschchen REF # ESB20
20 ml Ureaperoxyd in einem Zitat-Phosphat-Puffer. Enthält Thiomersal, 0,01% w/v.

Substrattabletten

1 Fläschchen REF # EST4
4 x 4 mg Orthophenylendiamin (OPD)-Tabletten mit inaktiven Inhaltsstoffen.

hCG Kalibratoren

6 Fläschchens REF # ECGS1-6

hCG Positive Referenz

1 Fläschchen REF # ECGR

2,0 ml in Kalibrator A und 0,5 ml in Kalibrator B-F und Positive Referenz, jeweils in Rinderserum. Enthält NaN₃, 0,1% w/v. Lyophilisiert.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE FÜR DEN BENUTZER

Behandlung der Proben und Komponenten des Kits. Deren Verwendung, Lagerung und Anordnung sollte gemäß der lokalen oder nationalen Laborsicherheitsvorschriften oder Richtlinien erfolgen. Nur für Fachpersonal.

Proben, Kalibratoren und positive Referenz

Die Ausgangsstoffe der Kalibratoren und die positive Referenz wurden mit einer anerkannten, zugelassenen Methode für das Vorliegen von Hepatitis B Oberflächenantigen, Hepatitis C Antikörper und HIV Antikörper - 1/2 (AIDS) getestet und wurden insgesamt als nicht reaktiv befunden. Trotzdem empfiehlt es sich, alle Proben als potentiell infektiös zu behandeln.

Konservierungsstoffe

Dieser Kit enthält Natriumazid, Thiomersal und Bronidox L als Konservierungsstoffe. Da Reagentien potentiell toxische Konservierungsstoffe enthalten, sollte vorsichtig damit umgegangen werden, um Verschlucken oder Hautkontakt zu vermeiden. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferrohrleitungen reagieren und potentiell explosive Säuren bilden.

Substrat

Jeglichen Hautkontakt vermeiden.

PROBENENTNAHME UND UMGANG

Es ist keine spezielle Patientenvorbereitung erforderlich. Als Probenmaterial kann man Serum oder Plasma verwenden, das labortestgerecht zu entnehmen ist. Serum ist vorzuziehen, jedoch können die Antikoagulantien Heparin oder EDTA ohne Genauigkeitseinbußen verwendet werden.

Stark hämolysierte, lipämische und trübe Proben sind zu vermeiden. Proben können bei 2-8°C bis zu 48 Stunden gelagert werden. Länger zu lagernde Proben sollten bei -20°C oder darunter aufbewahrt werden. Proben sollten nicht wiederholt eingefroren oder aufgetaut werden. Aufgetaute Proben sollten auf Ausflockungen geprüft werden und unmittelbar vor dem Test durch Umdrehen über Kopf gemischt werden.

Trübe Proben oder Proben, die Partikel enthalten, sollten vor Gebrauch zentrifugiert werden.

ERFORDERLICHES, NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL UND AUSTRÜSTUNG

- * Destilliertes oder entionisiertes Wasser
- * 1M H₂SO₄
- * Präzisionspipetten
- * Multipipette
- * 1l Messzylinder
- * Saugfähiges Papier (fusselfrei)
- * Timer
- * Vortexmischer
- * Mikrotiter Plattenschüttler
- * Mikrotiter Plattenwascher
- * Mikroplattenreadersystem

HINWEISE ZUM VERFAHREN

Alle Reagentien und Proben auf Raumtemperatur bringen (20-25°C) und vor der Verwendung vorsichtig mischen (über Kopf umdrehen). Doppelbestimmungen sind empfehlenswert. Kontamination der Reagentien führt zu geringer Leistung. Eine Kalibratorkurve sollte für jeden Test angelegt werden. Proben, bei denen Verdacht auf Überschreitung des Kalibratorhöchstwerts besteht, sollten vor dem Test in Nullkalibrator verdünnt werden. Alle Testschritte sind ohne Unterbrechung durchzuführen. Sollten jedoch die Vertiefungen nicht unmittelbar nach dem Waschen mit Amplifikationsreagenz oder Substratlösung gefüllt werden können, dann sind die Mikrotiterstreifen mindestens 15 Minuten lang mit über Kopf umgedreht auf saugfähigem, fusselfreiem Papier stehen gelassen werden.

Die Reagentien sind aufeinander abgestimmt, daher sollten Reagentien unterschiedlicher Lotnummern nicht miteinander gemischt werden. Das Fotometer und alle verwendeten Pipetten sind vor dem Gebrauch entsprechend zu kalibrieren.

Waschen

Die Effizienz jedes Waschschritts ist von entscheidender Bedeutung für eine hohe Präzision. Die Mikrotiterstreifen werden unter Verwendung eines automatischen Plattenwaschers gewaschen. Überfließen von einer Well zu anderen ist zu vermeiden.

Qualitätskontrolle

Kontrollproben sollten bei jedem Test mitbestimmt werden, um eine korrekte testdurchführung zu garantieren. Vor einer Freigabe der Testergebnisse sollten die Kontrollwerte innerhalb der vorgegebenen Bereiche liegen.

TESTVERFAHREN

Vorbereitung der Reagentien Waschlösung

Waschkonzentrat 1 zu 15 mit entionisiertem Wasser verdünnen. Die Waschlösung kann bei Raumtemperatur (20-25°C) 12 Wochen gelagert werden.

Substratlösung

Es empfiehlt sich, diese Reagenz erst unmittelbar vor Gebrauch vorzubereiten. Korrekte Anzahl von OPD-Tabletten in die erforderliche Menge Substratpuffer geben. 1 Tablette pro 5 ml zugeben. Nach dem vollständigen Auflösen der Tabletten (1-2 Minuten) und nachdem keine Blasen mehr vorhanden sind, den Stöpsel wieder auf die Flasche setzen und durch Umdrehen über Kopf mischen. Starke Lichteinstrahlung vermeiden. Die Substratlösung ist innerhalb von 30 Minuten nach deren Vorbereitung zu verwenden.

Kalibratoren und positive Referenz

Zur Rekonstitution der lyophilisierten Kalibratoren und der positiven Referenz das auf jedem Fläschchenetikett angegebene Volumen entionisierten Wassers zugeben. Fläschchens bis zur vollständigen Lösung (mindestens 30 Minuten) ungestört stehen lassen und dann vorsichtig durch Umdrehen über Kopf mischen. Die exakten chargenabhängigen Konzentrationen sind auf einem separaten im Kit enthaltenen Blatt angegeben. Nach Rekonstitution können die Kalibratoren/positive Referenz bei -20°C bis zu 4 Wochen lang gelagert werden.

Protokoll

Für den quantitativen Test eine vollständige Kalibratorkurve vorbereiten. Für den qualitativen Test nur Kalibrator A (negative Kontrolle), positive Referenz und Kalibrator E (positive Kontrolle) verwenden.

- Die Mikrotiterstreifen entsprechend der Anzahl der erforderlichen Tests im Rack zusammenstellen. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen wieder einpacken und auf 2-8°C bringen.
- 50 µl des Musters (Kalibrator, positive Referenz, Kontrolle, Probe) in die entsprechenden Vertiefungen pipettieren. Die zum Verteilen der Proben benötigte Zeit sollte nicht 20 Minuten überschreiten.
- Mikrotiterstreifen mit Deckel abdecken und 5 Minuten auf einem Plattenschüttler bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.
- Nach dem Inkubieren die Mikrotiterstreifen waschen. Flüssigkeit absaugen und jede Vertiefung 4 mal mit 250 µl Waschlösung waschen. Nach dem letzten Waschen die Mikrotiterstreifen über Kopf umdrehen und fest auf saugfähigen Papier aufklappen, um alle Waschlösungsreste zu entfernen. Sicherstellen, dass keine Luftblasen in den Vertiefungen zurückbleiben.
- 100 µl hCG Antikörper Reagenz (blau) in alle Vertiefungen pipettieren.
- Mikrotiterstreifen mit Deckel abdecken und 15 Minuten auf einem Plattenschüttler bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.
- Nach der Inkubation Waschschrift wiederholen.
- 100 µl hCG Amplifikationsreagenz (purpurrot) in alle Vertiefungen pipettieren.
- Mikrotiterstreifen mit Deckel abdecken und 10 Minuten auf einem Plattenschüttler bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.
- Nach der Inkubation Waschschrift wiederholen.
- 100 µl der vorbereiteten Substratlösung in die Vertiefungen pipettieren. Die Zeit des Inkubationsvorgangs wird ab dem Hinzufügen der Substratlösung zur ersten Vertiefung gemessen.
- Mikrotiterstreifen mit Deckel abdecken und 5 Minuten ohne Schütteln bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.
- 50 µl 1M H₂SO₄ in der gleichen Zeitabfolge wie für die Zugabe der Substratlösung in alle Vertiefungen pipettieren.

KALIBRATION

Die Kalibratoren dieses Kits sind in IU/l kalibriert und angegeben, gemäß WHO 3. IS 75/537.

GRENZEN DES VERFAHRENS

Stark hämolysierte, lipämische oder trübe Serumproben können zu falschen Ergebnissen führen.

ERWARTETE WERTE

Jedes Labor sollte einen eigenen Referenzbereich ermitteln, der auf einem repräsentativen Kollektiv basiert. hCG wird nicht von normalen gesunden Männern, von Frauen in Postmenopause und von nicht schwangeren Frauen ausgeschieden. Folgender Referenzbereich ergab sich aus dem Test von Serumproben schwangeren Personen und wird hier nur als Beispiel aufgeführt:

Wochen n. d. letzten Menstruationsperiode	hCG Range (IU/l)
2 - 3	100 - 19400
4 - 5	78 - 48030
6 - 7	75 - 99410
8 - 12	5750 - 48200
> 12	10740 - 13470

14. Eine Endpunktablesung bei 490 nm vornehmen und die Daten wie im Benutzerhandbuch des Mikroplattenreaders beschreiben verarbeiten. Dieser Lesevorgang ist innerhalb von 30 Minuten ab dem Ende der Reaktion durchzuführen.

BERECHNUNG DER

ERGEBNISSE

Die Berechnung der Ergebnisse kann manuell erfolgen, wenn keine automatische Datenauswertung vorhanden ist.

OD für jede Vertiefung bestimmen.

Quantitativer Test

Kalibratorkurve unter Verwendung eines Log-Log-Grafikpapiers mit der Konzentration der Kalibratoren auf der X-Achse und den OD auf der Y-Achse erstellen. Die Kurve kann von Punkt zu Punkt oder mit Hilfe einer Kurvenschablone aufgetragen werden, wie zum Beispiel Splineinterpolation. Die an dieser Kalibratorkurve gemessenen Probenwerte vom OD interpolieren. Den Wert jeder Probe IU/l hCG angeben. Der Bereich des *EL-ELEGANCE* hCG ELISA reicht von 0 bis ungefähr 500 IU/l, die maximal aufzeichenbare Konzentration wird jedoch durch die linearen Leistungsmerkmale des verwendeten Fotometers beschränkt. Wenn der OD des höchsten Kalibratorwerts über dem Bereich des Fotometers liegt, muss dieser Kalibrator aus der Kalibratorkurve weggelassen werden.

Qualitativer Test

Den OD (Probe) mit dem OD (positive Referenz) vergleichen. Die Ergebnisse werden unter Verwendung eines Prozentsatzes des positiven Referenzwertes errechnet.

Negativ	< 85%
Positiv	> 100%
Borderline	85 - 100%

In Borderlinefällen sollte nach 48 Stunden am Patienten eine erneute Probe entnommen und der Test wiederholt werden.

BERECHNUNGSBEISPIELE

Endpunkt Daten

ID	OD	hCG (IU/l)
0	0,036	
5	0,069	
15	0,141	
50	0,345	
150	0,985	
500	2,529	
Probe 1	0,116	11,6
Probe 2	0,227	28,5
Probe 3	0,845	128,6

TESTCHARAKTERISTIKA

Intra-Assay Präzision

Probe	n	MW. ± 2SD (IU/l)	%CV
1	16	8,0 ± 1,4	8,8
2	16	23,6 ± 2,6	5,5
3	16	58,7 ± 7,2	6,1

Inter-Assay Präzision

Probe	n *	MW. ± 2SD (IU/l)	%CV
1	33	8,5 ± 2,0	11,8
2	33	25,7 ± 6,1	11,9
3	33	138,2 ± 22,0	8,0

* Doppelbestimmung

Spezifität

Analyt	Getestete Konzentration	Scheinbares hCG Ergebnis (IU/l)
hLH	177 IU/l	6,5
	88 IU/l	< 2
hFSH	165 IU/l	< 2
hTSH	1150 mIU/l	< 2

Richtigkeit-Wiederfindung

Die Wiederfindung wurde berechnet durch Testen vor und nach Hinzufügen von exogenem Analyt.

Probe	hCG (IU/l) Gemessen	hCG (IU/l) Erwartet	% Wiederfindung
1	8,7	8,9	97,8
2	25,6	25,5	100,4
3	41,0	40,0	102,5
4	158,7	159,7	99,4

Richtigkeit-Verdünnung

Ein Probe wurde in Nullkalibrator verdünnt, gemessen und die Wiederfindung wurde berechnet.

Probe	hCG (IU/l) Gemessen	hCG (IU/l) Erwartet	% Wiederfindung
Net	130,3		
1/2	67,7	65,2	103,8
1/4	32,6	32,6	100,0
1/8	15,7	16,3	96,3

High-dose Hook-Effekt

Aufgrund des High-Dose Hook Effekts des Tests können Proben, die größer als 1,000,000 IU/l sind, fälschlicherweise Ergebnisse liefern, die niedriger als die des höchsten Kalibrators des Kits sind. Diese Proben sollten mit Nullkalibrator verdünnt und erneut getestet werden.

Sensitivität

Die Empfindlichkeit des Tests liegt charakteristischerweise unter 2 IU/l. Die Nachweisgrenze dieses Assays ist definiert als die Analytkonzentration, die dem OD von 16 Bestimmungen des Nullkalibrators minus 2 Standardabweichungen in drei verschiedenen Assays entspricht.

Interferenz

Es wurden keine Interferenzen mit der Analytgewinnung für Hämoglobinkonzentrationen bis 250 mg/dl, Bilirubin bis 10 mg/dl und Triglyzeride bis 970 mg/dl beobachtet.

BESTELL INFORMATION

Der *ELEGANCE* hCG ELISA wird hergestellt von:

Bioclone Australia Pty Limited,

71-73 Railway Parade, Marrickville, NSW 2204, AUSTRALIEN.

Telefon +61 (0) 2 9517 1966 Befreien.Sie.Ruf 1800 251 138

Fax +61 (0) 2 9517 2990

Email sales@bioclone.com.au Web www.bioclone.com.au

TECHNISCHER KUNDENDIENST

Voller technischer Kundendienst ist erhältlich durch Anruf bei Bioclone über die Nummer

+61 (0) 2 9517 1966 oder Befreien Sie Ruf 1800 251 138

TEILENUMMER.: *EKBHCGG* Ausg.5 Revision Datum: 14 Juli 2006