



BIOCLONE

ELEGANCE

# IgE ELISA KIT

REF 40 435096

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 Freecall 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 IgE ELISA dient der quantitativen *in-vitro*-diagnostischen Bestimmung von IgE im Serum oder Plasma.

## GRUNDPRINZIPIENDES ELEGANCE ELISA

Dieser ELEGANCE ELISA basiert auf einem Enzyme-linked immunoassay. Die Antigenprobe wird "sandwichartig" zwischen den an den Mikrotiterstreifen gebundenen Antikörper und das biotinierte Antikörperreagenz eingelagert. Die Mikrotiterstreifen werden gewaschen, um alle ungebundenen Materialien 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 Peroxydase, um direkt proportional zur Anzahl der Probeantigene Farbe zu produzieren, die anhand der Kalibratorkurve berechnet werden kann.

## MITGELIEFERTE ELEGANCE REAGENZEN, STABILITÄT UND LAGERUNG

Kitgröße - 96 Tests. Der Kit und alle Komponenten sollten geöffnet oder ungeöffnet bei 2-8°C innerhalb des angegebenen Verfalldatums gelagert werden.

## IgE: Beschichtete Mikrotiterstreifen

**96 Vertiefungen REF # IEA96**  
Rack mit Mikrotiterstreifen, die mit anti-IgE Antikörper beschichtet sind. Gebrauchsfertig.

## IgE: Antikörper Reagenz

**1 Fläschchen REF # IEB96**  
10 ml biotiniertes anti-IgE Antikörper in einer gepufferten Lösung, die Rinderserumalbumin, nicht immunes Tierserum und einen blauen Farbstoff enthält. Enthält Natriumazid, 0,2% w/v und Thiomersal, 0,01% w/v. Gebrauchsfertig.

## IgE: Amplifikationsreagenz

**1 Fläschchen REF # IEP96**  
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 15-fach konzentrierten Waschlösung. Enthält Thiomersal 0,09% w/v.

Vor Gebrauch verdünnen.

## Substratpuffer

**1 Fläschchen REF # ESB20**  
20 ml Harnstoffperoxyd in einem Zitrat-Phosphatpuffer. Enthält Thiomersal, 0,01% w/v.

## Substrattabletten

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

## IgE: Kalibratoren

**6 Fläschchen REF # EIES1-6**  
2,0 ml Kalibrator A und 0,5 ml in den Kalibratoren B-F, jeweils in Rinderserum. Enthält Natriumazid, 0,1% w/v. Lyophilisiert.

## VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE FÜR DEN BENUTZER

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

## Proben und Kalibratoren

Die Ausgangsstoffe der Kalibratoren wurden mit einer anerkannten, zugelassenen Methode für das Vorliegen von Hepatitis B Oberflächenantigen, Hepatitis C Antikörper und HIV - Antikörper - 1/2 (AIDS) getestet und 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 die Reagenzien einen potentiell toxischen Konservierungsstoff enthalten, sollte vorsichtig mit diesen 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 HANDHABUNG

Es ist keine spezielle Patientenvorbereitung notwendig. Als Probenmaterial kann man Serum oder Plasma verwenden, das labortestgerecht zu entnehmen ist. Serum ist vorzuziehen, trotzdem können die Antikoagulantien Heparin oder EDTA ohne Genauigkeitseinbußen verwendet werden. Stark hämolysierte, lipämische und trübe Proben sind zu vermeiden.

Die Proben können bei 2-8°C bis zu 48 Stunden gelagert werden. Länger zu lagernde Proben sollten bei -20°C oder darunter gelagert werden. Proben sollten nicht wiederholt eingefroren und aufgetaut werden.

Aufgetaute Proben sollten auf Ausflockungen geprüft werden und durch Umdrehen über Kopf kurz vor Gebrauch gemischt werden. Trübe Proben oder Proben, die Partikel enthalten, sollten vor Gebrauch zentrifugiert werden.

## ERFORDERLICHES, NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL UND GERÄT

- \* Destilliertes oder entionisiertes Wasser
- \* 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- \* Präzisionspipetten
- \* Multipipette
- \* 11 Messzylinder
- \* Saugfähiges Papier (flusenfrei)
- \* Timer
- \* Vortexmischer
- \* Mikrotiter Plattenschüttler
- \* Mikrotiter Plattenwascher
- \* Mikroplattenlesesystem

## HINWEISE ZUM VERFAHREN

Alle Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur bringen (20-25°C) und vor Gebrauch vorsichtig durch Umdrehen über Kopf mischen. Doppelbestimmungen sind empfehlenswert. Kontamination der Reagentien führt zu schlechten Ergebnissen.

Bei jedem Test sollte eine Kalibratorkurve angelegt werden. Proben mit vermuteten Konzentrationen oberhalb des höchsten Kalibrators sollten vor Testdurchführung mit Nullkalibrator verdünnt werden. Alle Testschritte sollten ohne Unterbrechung durchgeführt werden, sollte es jedoch nicht möglich sein, die Vertiefung unmittelbar nach dem Waschen mit Amplifikationsreagenz oder Substratlösung aufzufüllen, dann sollten die Mikrotiterstreifen maximal 15 Minuten lang auf den Kopf umgedreht auf flusenfreiem Papier stehen gelassen werden. Die Reagentien sind aufeinander abgestimmt, daher sollten Reagentien unterschiedlicher Lotnummern nicht gemischt werden. Das Fotometer und alle Pipetten sind vor Gebrauch entsprechend zu kalibrieren.

## Waschen

Die Effizienz jedes Waschschriffs ist unerlässlich für eine gute Präzision. Die Mikrotiterstreifen werden mit Hilfe eines automatischen Plattenwaschers gewaschen. Überschwappen von einer Vertiefung zur 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 lang gelagert werden.

#### Substratlösung

Es wird empfohlen, diese Reagenz unmittelbar vor Gebrauch vorzubereiten. Die richtige Anzahl von OPD-Tabletten in die erforderliche Menge Substratpuffer geben.

Jeweils 1 Tablette pro 5ml zugeben. Nach dem vollständigen Auflösen der Tabletten (1-2 Minuten) und nachdem keine Blasen mehr vorhanden sind, den Stöpsel wieder auf die Flasche geben und durch Umdrehen über Kopf mischen.

#### Kalibratoren

Zur Rekonstitution der lyophilisierten Kalibratoren das auf jedem Fläschchenlabel angegebene Volumen entionisierten Wassers zugeben. Fläschchen bis zur vollständigen Lösung ruhig stehen lassen (mind. 30 Minuten) und dann durch Umdrehen über Kopf vorsichtig mischen. Die exakten chargenabhängigen Konzentrationen sind auf einem separaten im Kit enthaltenen Blatt angegeben.

Nach Rekonstitution können die Kalibratoren bei -20°C bis zu 4 Wochen gelagert werden.

#### Protokoll

1. Mikrotiterstreifen entsprechend der Anzahl der geforderten Tests ins Rack zusammenstellen. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen wieder verschließen und bei 2-8°C lagern.
2. 25 µl Probe (Kalibrator, Kontrolle, Probe) in die entsprechenden Vertiefungen pipettieren. (Doppelbestimmung) Die Zeit zum Verteilen der Proben sollte 20 Minuten nicht überschreiten.
3. 100 µl jeder IgE Antikörper Reagenz (blau) in alle Vertiefungen einfüllen.
4. Mikrotiterstreifen mit Deckel zudecken und 60 Minuten lang auf einem Plattenschüttler bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.
5. Nach der Inkubation die Mikrotiterstreifen waschen. Flüssigkeit aspirieren und jede Vertiefung 4 mal mit 250 µl Waschlosung spülen. Nach dem letzten Waschen die Mikrotiterstreifen über Kopf umdrehen und fest auf saugfähigem Papier aufklopfen, um alle Waschlösungsreste zu entfernen. Sicherstellen, dass keine Luftblasen in den Vertiefungen zurückbleiben.
6. 100 µl IgE Amplifikationsreagenz (purpurrot) in jede Vertiefung pipettieren.
7. Mikrotiterstreifen mit Deckel abdecken und 10 Minuten lang auf einem Plattenschüttler bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.
8. Nach der Inkubation Waschschrift wiederholen.

#### KALIBRATION

Die in diesem Kit mitgelieferten Kalibratoren wurden in kIU/L angegeben und standardisiert, entsprechend WHO 2. IRP 75/502.

#### GRENZEN DES VERFAHRENS

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

9. 100 µl der vorbereiteten Substratlösung in alle Vertiefungen pipettieren. Die Zeit des Inkubationsschrittes wird ab der Zugabe der Substratlösung zur ersten Vertiefung gemessen.

10. Mikrotiterstreifen mit Deckel abdecken und 5 Minuten lang ohne Schütteln bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.

11. 50 µl einer 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in alle Vertiefungen in der gleichen Zeitabfolge wie für die Substratlösungszugabe pipettieren.

12. Eine Endpunktablesung bei 490 nm durchführen und die Daten entsprechend den Angaben im Benutzerhandbuch des Mikroplattenlesers verarbeiten. Dieser Leseschritt sollte innerhalb von 30 Minuten ab Reaktionsstop durchgeführt werden.

#### BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

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

OD für jede Vertiefung bestimmen. Kalibratorkurve auf einem log-log-Grafikpapier mit den Konzentrationen des Kalibrators auf der X-Achse und den OD auf der Y-Achse zeichnen. Die Kurve kann von Punkt zu Punkt oder mit Hilfe einer Kurvenschablone gezeichnet werden, wie zum Beispiel Splineinterpolation. Die an dieser Kalibratorkurve gemessenen Probenwerte vom OD interpolieren. Den Wert jeder Probe in kIU/l IgE angeben.

Der Bereich des *ELEGANCE* IgE ELISA reicht von 0 bis ungefähr 1000 kIU/L, die aufzeichenbare Maximalkonzentration wird jedoch durch die linearen Leistungsmerkmale des verwendeten Fotometers beschränkt.

Wenn der OD des höchsten Kalibratorwerts über dem Bereich des Fotometers liegt, dann muss dieser Kalibrator aus der Zeichnung der Kalibratorkurve weggelassen werden.

#### BERECHNUNGSBEISPIEL

Endpunkt Daten		IgE (kIU/L)
ID	OD	
0	0,045	
3	0,082	
10	0,137	
30	0,291	
200	0,949	
1000	1,563	
Probe 1	0,253	25,2
Probe 2	1,003	232,2
Probe 3	0,082	3,1

#### ERWARTETE WERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor auf Basis eines repräsentativen Kollektivs einen eigenen Referenzbereich ermittelt. Nachfolgender Referenzbereich wurde durch Testen von Serumproben an Gesunden ermittelt und dient nur als Beispiel:

95% der Werte lagen unter	287,1	kIU/l
75% der Werte lagen unter	82,7	kIU/l
50% der Werte lagen unter	31,3	kIU/l

#### TESTCHARAKTERISTIKA

##### Intra-Assay Präzision

Probe	n	MW ± 2SD (kIU/L)	%CV
1	16	20,5 ± 2,2	5,4
2	16	132,8 ± 16,5	6,2
3	16	266,6 ± 23,1	4,3

##### Inter-Assay Präzision

Probe	n *	MW ± 2SD (kIU/L)	%CV
1	40	20,7 ± 2,0	4,8
2	40	74,9 ± 10,7	7,1
3	40	141,1 ± 23,7	8,4

\* Doppelbestimmung

##### Spezifität

Analyt	Konzentration Getestet	Scheinbare IgE Ergebnisse (kIU/L)
IgM	0,39 mg/mL	nicht nachweisbar
IgA	0,29 mg/mL	< 2
IgG	3,75 mg/mL	< 2

##### Richtigkeit-Wiederfindung

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

Probe	IgE (kIU/L) Gemessen	IgE (kIU/L) Erwartet	% Wiederfindung
1	78,5	77,9	100,8
2	124,5	125,8	99,3
3	165,9	177,6	93,4
4	218,5	215,4	101,4

##### Richtigkeit-Verdünnung

Eine Probe wurde mit Nullkalibrator verdünnt, gemessen und die Wiederfindung wurde berechnet.

Probe	IgE (kIU/L) Gemessen	IgE (kIU/L) Erwartet	% Wiederfindung
Net.	168,7		
1/2	81,0	84,4	96,0
1/4	42,9	42,2	101,7
1/8	22,8	21,1	108,1

##### High-Dose Hook Effekt

Aufgrund des testcharakteristischen High-Dose Hook Effekts können Proben, die größer als 8000 kIU/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 Sensitivität des Tests liegt charakteristischerweise unter 1,0 kIU/L. Die Nachweisgrenze dieses Assays wird als die Analytkonzentration definiert, die dem OD von 16 Bestimmungen des Nullkalibrators minus 2 Standardabweichungen in drei verschiedenen Assays entspricht.

##### Interferenz

Es wurden keine Interferenzen bei Hämoglobinkonzentrationen bis zu 250 mg/dL, Bilirubin bis 10 mg/dL und Triglyzeriden bis 970 mg/dL beobachtet.

#### BESTELLINFORMATION

Der *ELEGANCE* IgE ELISA wird hergestellt von:

Bioclone Australia Pty Limited,  
71-73 Railway Parade, Marrickville, NSW 2204, AUSTRALIEN.  
Telefon +61 (0) 2 9517 1966 Freecall 1800 251 138  
Fax +61 (0) 2 9517 2990  
Email sales@bioclone.com.au Web: www.bioclone.com.au

#### TECHNISCHER KUNDENDIENST

Vollständiger technischer Kundendienst ist erhältlich durch Anruf bei Bioclone unter der Nummer +61 (0) 2 9517 1966 oder Freecall 1800 251 138

TEILENUMMER: EKBIGEG Ed 5

Revision Datum: 13 Können Sie 2009