



ELEGANCE NEONATAL IRT ELISA KIT

REF 40 500480

Σ 480

REF 40 502400

Σ 2400

DEUTSCH



GARANTIE

Der Hersteller gewährt keine andere Garantie außer der, dass der Diagnostikkit den betreffenden Analyten misst, wenn es gemäß der gedruckten Gebrauchsanweisung des Herstellers verwendet wird. Die Verwendung des Diagnostikkits für jeden anderen Zweck ist nicht Teil des Verwendungszwecks dieses Produkts 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* Neonatal IRT ELISA dient der quantitativen in-vitro-diagnostischen Bestimmung von immunoreaktivem Trypsinogen (IRT) beim Screening humaner neonataler Blutflecken.

TESTPRINZIP

Der ELISA ist ein Enzyme-Linked Immuno-Assay. Das IRT wird aus dem Blutfleck eluiert und „Sandwich“-artig zwischen die an die Mikrotiterstreifen gebundenen Antikörper und das biotinierte Antikörperreagenz eingelagert. Die Mikrotiterstreifen werden gewaschen, um alles ungebundene Material zu entfernen. Streptavidinperoxydase (Amplifikationsreagenz) wird zugegeben und bindet sich an die biotinierten Antikörper an vielen Bindungsstellen. Nach dem Waschen reagiert die Substratlösung mit jeder gebundenen Peroxydase, wobei sich in direkter Proportionalität mit der Anzahl des Probeantigens Farbe entwickelt, was aus der Kalibratorkurve abgelesen werden kann.

ELEGANCE MITGELIEFERTE REAGENZIEN, STABILITÄT UND LAGERUNG

Kitgrößen – 480 Tests und 2400 Tests (in Klammern). Der Kit und alle Komponenten sollten geöffnet oder ungeöffnet bei 2-8°C innerhalb des angegebenen Verfalldatums gelagert werden.

Neonatal IRT:

Beschichtete Mikrotiterstreifen

1 x 96 Vertiefungen Kat # ITA96
5 x 96 Vertiefungen Kat # ITA5
(25 x 96 Vertiefungen Kat # ITA25)
Rack mit Mikrotiterstreifen, die mit anti-IRT Antikörper beschichtet sind. Gebrauchsfertig.

Neonatal IRT:

Antikörperreagenz

1 Fläschchen Kat # ITB480

(1 Fläschchen Kat # ITB25)

50 (250) ml biotiniertes anti-IRT Antikörper in einer gepufferten Lösung, die Rinderserumalbumin und einen blauen Farbstoff enthält. Enthält Natriumazid, 0,1% w/v. Gebrauchsfertig.

Neonatal IRT:

Amplifikationsreagenz

1 Fläschchen Kat # ITP480

(1 Fläschchen Kat # ITP25)

50 (250) ml Streptavidinperoxydase (Streptavidin von *S. avidinii*) in einer gepufferten Lösung, die Rinderserumalbumin und einen violetten Farbstoff enthält. Enthält Bronidox L, 0,2% v/v und Thiomersal, 0,02% w/v.. Gebrauchsfertig

Waschkonzentrat

1 Fläschchen Kat # EWC5

(2 Fläschchen Kat # EWC25)

250 (500) ml einer 15fach konzentrierten Waschlösung. Enthält Thiomersal, 0,15% w/v. Vor Gebrauch verdünnen.

Stabilisierende Stopplösung

1 Fläschchen Kat # ESL5

(1 Fläschchen Kat # ESL25)

30 (124) ml 2M HCL.

Gebrauchsfertig

Substratlösung TMB N

1 Fläschchen Kat # TMBB5

(1 Fläschchen Kat # TMBB25)

50 (250) ml 3,3', 5,5'-

Tetramethylbenzidin und

Hydrogenperoxydase in einer

Stabilisierlösung. Gebrauchsfertig.

Neonatal IRT: Kalibratoren

Als beides verfügbar :

6 Fläschchen Kat # EITS7

(2 x 6 Fläschchen Kat # EITS7)

Je 0,5 ml in einer gepufferten Lösung, die BSA und einen gelben Farbstoff enthält. Enthält Natriumazid, 0,2% w/v und Thiomersal, 0,01% w/v.

Lyophilisiert.

Oder:

Neonatal IRT: Blutflecken

Kalibratoren und Kontrollen

1 Set Kat # ETNS6

(4 Sets Kat # ETNS7)

Getrocknete menschliche Blutflecken mit 6 Kalibratoren (A-F) und 2 Kontrollen (1-2) auf Filterpapier. Gebrauchsfertig. (Ein weiterer Spitzenkalibrator [nominiell 1000 ug/L] und eine Kontrolle können auf Wunsch geliefert werden)

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE FÜR DEN BENUTZER

Handhabung 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 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 (AIDS) getestet und insgesamt als nicht reaktiv befunden. Trotzdem empfiehlt es sich, alle Proben als potentiell infektiös zu betrachten.

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.

Substratlösung und stabilisierende

Stopplösung

Jeglichen Hautkontakt vermeiden.

PROBENENTNAHME UND HANDHABUNG

Der *ELEGANCE* Neonatal IRT ELISA dient zur Verwendung von neonatalen, durch Piekens der Ferse abgenommenen und auf Filterpapier gemäß der NCCLS LA4A Richtlinien (insofern anwendbar) getrockneten Blutproben. Das Filterpapier sollte vom Typ Schleicher sein und Schuell Grad 903 aufweisen, damit die Proben äquivalent zu den mitgelieferten Kalibratoren sind.

Blut von den Fersen Neugeborener wird durch Piekens 3-5 Tage nach der Geburt abgenommen. Einen Blutfleck, der einen kreisförmigen Probereich auf dem Filterpapier deckt, erhält man durch einmalige Anwendung des Filterpapiers auf einem Blutropfen, der aus der angepieksten Ferse des Neugeborenen gewonnen wird. Der Blutfleck sollte den Filterpapierprobereich voll abdecken und durchnässen. Nach der Entnahme der Testproben werden die Filterpapiere horizontal getrocknet (2 h oder länger). Die getrockneten Proben können bei

2-8°C gelagert werden. Nur mit der o.g. Methode vorbereitete Blutflecken sollten getestet werden. Nicht verwendetes Filterpapier sollte bei Raumtemperatur getrocknet werden.

ERFORDERLICHES, NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL UND GERÄT

- * Destilliertes und entionisiertes Wasser
- * Kreisstanze (3 mm)
- * Pinzette
- * Präzisionspipetten
- * Multipipette
- * 11 Messzylinder
- * säugfähiges Papier (flusenfrei)
- * Timer
- * Mikrotiter Plattenschüttler
- * Mikrotiter Plattenwascher
- * Mikroplattenlesersystem

HINWEISE ZUM VERFAHREN

Alle Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur bringen (20-25°C) und vor Gebrauch vorsichtig mischen (über Kopf umdrehen). Doppelbestimmung ist empfehlenswert. Kontamination der Reagenzien führt zu schlechten Ergebnissen.

Bei jedem Test sollte eine Kalibratorkurve angelegt werden. Vor dem ersten Waschen sollten die ausgestanzten Scheiben jeweils durch Ansaugen oder vorsichtiges Aufpieksen mit der Nadel entfernt werden. Alle Testschritte sollten ohne Unterbrechung durchgeführt werden, wenn jedoch die Vertiefungen unmittelbar nach dem Waschen nicht mit Amplifikationsreagenz oder Substratlösung aufgefüllt werden können, dann sollten die Mikrotiterstreifen umgedreht auf flusenfreiem Saugtuch maximal 30 Minuten lang (Amplifikationsreagenz) und 30 Minuten lang (Substratlösung) stehen gelassen werden. Die Reagenzien aufeinander abgestimmt, daher sollte man Reagenzien unterschiedlicher Lotnummern nicht untereinander mischen. Das Fotometer und alle Pipetten sind vor Gebrauch entsprechend zu kalibrieren.

Waschen

Die Effizienz jedes Waschschritts 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 Reagenzien

Waschlösung

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

Lyophilisierten Kalibratoren*

Zur Rekonstitution der lyophilisierten Kalibratoren das auf jedem Fläschchenetikett angegebene Volumen entionisierten Wassers zugeben. Fläschchen bis zur vollständigen Lösung ruhig stehen lassen (mind. 30 Min.) und dann durch vorsichtiges Umdrehen über Kopf mischen. Die exakten chargenabhängigen

Konzentrationen sind auf einem separaten im Kit enthaltenen Blatt angegeben.

Nach der Rekonstitution sollten die Kalibratoren bei -20°C bis zu 8 Wochen gelagert werden.

Blutflecken Kalibratoren und Kontrollen*

Die exakten chrogenabhängigen Konzentrationen sind auf einem separaten Blatt der jeweiligen Blutfleckensets angegeben. Zum Vermeiden von Kondensation die Blutflecken nicht vor der Temperaturangleichung öffnen. Nicht verwendete Blutfleckstreifen wieder in Plastikbeutel versiegeln und bei 2-8°C lagern.

Protokoll

- Die Mikrotiterstreifen entsprechend der Anzahl der geforderten Tests im Rack zusammenstellen. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen wieder einpacken und bei 2-8°C lagern.
- Eine einzelne 3mm-Scheibe (Kontrolle, Probe) in die entsprechenden Vertiefungen geben. Rand des Blutflecken beim Ausstanzen der Probe vermeiden
- 15 µl oder eine einzelne gestanzte 3 mm - Scheibe oder die Kalibratoren (wie geliefert) in die entsprechenden Vertiefungen einpipettieren. Die zum Dispensieren erforderliche Zeit sollte nicht länger als 20 Minuten dauern.
- 100 µl Neonatal IRT Antikörperreagenz (blau) in alle Vertiefungen pipettieren.
- Mikrotiterstreifen mit Deckel zudecken und 10 Min. lang auf einem Plattenschüttler bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren
- Mikrotiterstreifen übernacht (16-24 h) ohne Schütteln bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.
- Am nächsten Tag 10 Min. lang auf einem Plattenschüttler bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.
- Nach der Inkubation die Scheiben entfernen.
- Mikrotiterstreifen waschen. Flüssigkeit aspirieren und jede Vertiefung 4 mal mit 250 µl Waschlösung spülen. Nach dem letzten Waschen die Mikrotiterstreifen umdrehen und fest auf saugfähigem Tuch aufklopfen, um alle Reste der Waschlösung zu entfernen. Sicherstellen, dass keine Luftblasen in den Vertiefungen zurückbleiben.
- 100 µl Neonatal IRT

MODELLBERECHNUNGEN

ID	Daten	
	cpm-MW	IRT (µg/l W.B)
0	0.054	
13.2	0.507	
30.8	1.169	
67.8	2.011	
161	2.629	
331	3.052	
1041*	3.513	
Probe 1	1.630	46.8
Probe 2	2.315	103.8
Probe 3	2.930	271.8

Amplifikationsreagenz (violett) in jede Vertiefung pipettieren.

- Mikrotiterstreifen mit Deckel abdecken und 10 Min lang auf einem Plattenschüttler bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.
- Nach der Inkubation Waschschrift wiederholen.
- 100 µl Substratlösung in alle Vertiefungen pipettieren. Die Zeit des Inkubationsschrittes wird ab der Zugabe der Substratlösung zur ersten Vertiefung gemessen.
- Mikrotiterstreifen mit Deckel abdecken und 10 Min lang ohne Schütteln bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.
- 50 µl Stabilisierende Stoplösung in der gleichen Zeitabfolge wie für die Substratlösungszugabe in alle Vertiefungen pipettieren.
- Eine Endpunktablesung bei 450 nm durchführen und die Daten wie im Benutzerhandbuch des Mikroplattenlesers aufgeführt verarbeiten. Dieser Leseschritt sollte innerhalb von 30 Min. ab dem Reaktionsstop durchgeführt werden.

BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Die Berechnung der Ergebnisse ist manuell möglich, wenn keine automatische Datenauswertung vorhanden ist. Cpm-Mittelwert für jede Vertiefung bestimmen. Kalibrator Kurve auf einem log-log-Grafikpapier mit den Konzentrationen des Kalibrators auf der X-Achse und den cpm-Mittelwert 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 Kalibrator Kurve gemessenen Probewerte vom cpm-Mittelwert interpolieren. Den Wert jeder Probe in µg/l des Gesamtblut-IRT aufzeichnen. Der Bereich des ELEGANCE Neonatal IRT reicht von 0 bis ungefähr 1000* µg/l Gesamtblut, aber die aufzeichnbare Maximalkonzentration wird durch die linearen Leistungsmerkmale des verwendeten Fotometers beschränkt. Wenn der cpm-Mittelwert des höchsten Kalibratorwerts über dem Bereich des Fotometers liegt, dann muss dieser Kalibrator aus der Zeichnung der Kalibrator Kurve weggelassen werden. Auf ähnliche Weise sollte jede über dem Bereich des Mikroplattenlesers liegende Probenmessung einfach als größer als der höchste zulässige Kalibrator vermerkt werden.

KALIBRATION

Die in diesem Kit mitgelieferten Kalibratoren basieren auf Proteinmessungen und werden in µg/l Gesamtblut ausgedrückt. Man geht davon aus, dass das Blutvolumen in einem 3 mm Fleck 3 il bei einem Hamatokritwert von 55% (v/v) beträgt. Die Umrechnung auf Standardeinheiten kann man mit Hilfe der nachfolgenden Formel durchführen:

$$\mu\text{g/l Serum} = \mu\text{g/l Gesamtblut} \times 2.2$$

ERWARTETE WERTE

Jedes Labor sollte auf der Basis eines repräsentativen Kollektivs einen eigenen Referenzbereich festlegen. In der Regel wird ein Anhaltewert von 50 µg/l Gesamtblut bei Neugeborenen 3-5 Tage nach der Geburt verwendet. Es hat sich gezeigt, dass Trypsinogenkonzentrationen bei nichtbefallenen Neugeborenen nicht normal verteilt waren, sondern durch logarithmische Umwandlungen in eine normale Verteilung umgerechnet werden konnten.

TESTCHARAKTERISTIKA

Intra-Assay Präzision

Probe	n	MW ± 2SD (µg/l, Gesamtblut)	%CV
1	20	33.1 ± 1.8	2.8
2	20	58.0 ± 5.7	4.9
3	20	14.9 ± 2.4	7.9

Inter-Assay Präzision

Probe	n *	MW. ± 2SD (µg/l Gesamtblut)	%CV
1	66	28.0 ± 2.8	7.0
2	66	56.4 ± 6.2	6.3
3	66	15.8 ± 3.5	3.7

* Doppelbestimmung

Spezifität

Analyt	Konzentration Gemessen	cheinbare IRT (µg/l W.B.)	XReaktivität
Human			
a2-Makroglobulin	50 mg/ml	<1*	nicht nachweisb.
a-1-Antitrypsin	3 mg/ml	<1*	nicht nachweisb.
a-Chymotrypsin A	780 ng/ml	<1*	nicht nachweisb.
Rind			
Trypsinogen	500 ng/ml	<1*	nicht nachweisb.

Genauigkeit

Die Wiederfindung wurde durch Messen vor und nach Zugabe von exogenem Analyt bestimmt.

Probe	Gemessenes IRT (µg/l W.B.)	Erwarteter IRT (µg/l W.B.L)	% Wiederfindung
1	95.3	94.7	100.6
2	154.0	153.0	100.7
3	259.7	226.0	114.9

Verdünnung

Eine Probe wurde in Nullserum verdünnt, gemessen und die Wiederfindung wurde berechnet.

Probe	Gemessener IRT (µg/l W.B.L)	Erwarteter IRT (µg/l W.B.L)	% Wiederfindung
Net	196.7		
1/2	98.0	98.4	99.6
1/4	49.7	49.2	101.0
1/8	24.5	24.6	99.6

High-dose Hook Effekt

Hook-Effekte sind testcharakteristisch und können auftreten, wenn Proben mit hohen Werten zu irreführenden IRT Ergebnissen führen. Für Testproben mit IRT-Werten bis an die Testgrenze von 80000 µg/l Gesamtblut trat kein Hook-Effekt auf.

Sensitivität

Die Sensitivität des Assays liegt charakteristischerweise unter 2,2 µg/l Serum.. Die Nachweisgrenze dieses Assays, definiert als die Analytkonzentration, die dem cpm-Mittelwert von 20 Bestimmungen des Nullkalibrators minus 2 Standardabweichungen in drei verschiedenen Assays entspricht.

BESTELLINFORMATION

Der ELEGANCE NEONATAL IRT 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: EKBIRTG Ed6 Revision Datum: 5 Mai 2008
(*Wenn zutreffend)