



BIOCLONE

# ELEGANCE LH ELISA KIT

REF 40 430096

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* LH ELISA dient der quantitativen in-vitro-diagnostischen Bestimmung des luteinisierenden Hormons LH im Serum oder Plasma.

## TESTPRINZIP

Dieser ELISA basiert auf einem Enzyme-Linked Immunoassay. Das Probeantigen wird „sandwichartig“ zwischen den an die Mikrotiterstreifen gebundenen Antikörper und das biotinierte Antikörperreagenz eingelagert. Die Mikrotiterstreifen werden gewaschen, um alle ungebundenen Materialien 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 und entwickelt direkt proportional zur Menge des Probeantigens Farbe, was aus der Kalibrator Kurve errechnet werden kann.

## MITGELIEFERTEREAGENZIIEN, 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.

## LH: Beschichtete

**Mikrotiterstreifen**  
**96 Vertiefungen REF # LHA96**  
Rack, das mit Mikrotiterstreifen enthält, die mit anti-LH Antikörper beschichtet sind. Gebrauchsfertig.

## LH: Antikörperreagenz

**1 Fläschchen REF # LHB96**  
5 ml biotiniertes anti-LH 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.

## LH: Amplifikationsreagenz

**1 Fläschchen REF # LHP96**  
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 Citrat-Phosphat-Puffer. Enthält Thiomersal, 0,01% w/v.

## Substrattabletten

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

## LH: Kalibratoren

**6 Fläschchen REF # ELHS1-6**  
0,5 ml, jeweils in humanem Serum. 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.

## Proben und Kalibratoren

Die Ausgangsstoffe der Kalibratoren und Kontrollen 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 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.

## 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 kann das Antikoagulum Heparin ohne Genauigkeitseinbußen verwendet werden.

**VORSICHT:** EDTA sollte nicht als Antikoagulum 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 dem Testen gemischt werden. Trübe Proben oder Proben, die Partikel enthalten, sollten vor Gebrauch zentrifugiert werden.

## ERFORDERLICHES, NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL UND GERÄT

- \* Destilliertes oder entionisiertes Wasser
- \* 1M 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 Reagentien und Proben auf Raumtemperatur bringen (20-25°C) und vor Gebrauch behutsam durch Umdrehen über Kopf mischen. Doppelbestimmungen sind empfehlenswert. Kontamination der Reagentien führt zu schlechten Ergebnissen.

Bei jedem Test sollte eine Kalibrator Kurve angelegt werden. Proben, bei denen Verdacht auf Konzentrationen oberhalb des Kalibratorhöchstwerts besteht, sind vor dem Test mit Nullkalibrator zu verdünnen. Alle Testschritte sollten ohne Unterbrechung durchgeführt werden; sollte es jedoch nicht möglich sein, die Vertiefungen unmittelbar nach dem Waschen mit Amplifikationsreagenz oder Substratlösung aufzufüllen, dann sollten die Vertiefungen maximal 15 Minuten lang über Kopf umgedreht auf flusenfreiem saugfähigem Papier stehen gelassen werden. Die Reagentien sind aufeinander abgestimmt, daher sollten Reagentien unterschiedlicher Lotnummern nicht untereinander gemischt werden. Das Fotometer und alle Pipetten sind vor Gebrauch entsprechend zu kalibrieren.

## Waschen

Die Effizienz jedes Waschschriffs ist entscheidend 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 durchgeführt werden, um eine korrekte Testdurchführung zu garantieren. Vor Freigabe der Testergebnisse sollten die Kontrollwerte innerhalb der vorgegebenen Bereiche liegen.

## TESTVERFAHREN

### Vorbereitung der Reagenzien Waschlösung

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

### Substratlösung

Es empfiehlt sich, diese Reagenz erst kurz vor Gebrauch vorzubereiten. Korrekte Anzahl von ODP-Tabletten in die erforderliche Menge Substratpuffer geben. 1 Tablette pro 5 ml zugeben. Nach dem vollständigen Lösen der Tabletten (1-2 Minuten) und

nachdem keine Luftblasen mehr vorhanden sind, Deckel wieder auf die Flasche geben und durch Umdrehen über Kopf mischen. Starkes Licht vermeiden. Die Substratlösung ist innerhalb vom 30 Minuten nach deren Zubereitung zu verwenden.

#### 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 sind die Kalibratoren bei -20°C bis zu 4 Wochen lagerbar.

#### Protokoll

1. Mikrotiterstreifen entsprechend der Anzahl der geforderten Tests im Rack zusammenstellen. Nicht verwendete Vertiefungen wieder verschließen und bei 2-8°C lagern.
2. 50 µl Probe (Kalibrator, Kontrolle, Probe) in die entsprechenden Vertiefungen pipettieren (Doppelbestimmung). Die Zeit zum Verteilen der Proben sollte 20 Minuten nicht überschreiten.
3. 50 µl LH Antikörperreagenz (blau) in alle Vertiefungen pipettieren.
4. Mikrotiterstreifen mit Deckel zudecken und 30 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 Waschlösung 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 LH Amplifikationsreagenz (purpurrot) in alle Vertiefungen pipettieren.
7. Mikrotiterstreifen mit Deckel zudecken und 10 Minuten auf einem Plattenschüttler bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren
8. Nach der Inkubation Waschschrift wiederholen.
9. 100 µl der vorbereiteten Substratlösung in jede Vertiefung pipettieren. Die Zeit des Inkubationsschrittes wird ab der Zugabe der Substratlösung zur ersten Vertiefung gemessen.

#### ERWARTETE WERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor auf Basis eines repräsentativen Kollektivs einen eigenen Referenzbereich ermittelt. Folgenden Referenzbereich erhielt man durch Testen von Serumproben Gesunden, dieser dient nur als Beispiel:

	n	LH Bereich (IU/l)
Frau	Follikulär	45 2,0 – 14,0
	Zyklusmitte	23 > 14,0
	Luteal	38 1,0 – 16,0
	Postmenopausisch	28 > 20,0
Mann	89	1,0 – 13,0

10. Mikrotiterstreifen mit Deckel abdecken und 5 Minuten 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 Endpunktlesung bei 490 nm durchführen und die Daten entsprechend den Angaben im Benutzerhandbuch des Mikroplattenlesers verarbeiten. Dieser Leseschritt sollte innerhalb von 30 Minuten ab Reaktionsstopp 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 auftragen. 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 IU/l LH angeben.

Der Bereich des *ELEGANCE* LH ELISA reicht von 0 bis ungefähr 150 IU/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.

#### BERECHNUNGSBEISPIELE

Endpunkt Daten

ID	OD	LH (IU/l)
0	0,048	
2	0,091	
5	0,160	
15	0,390	
50	1,129	
150	2,962	
Probe 1	0,135	4,0
Probe 2	0,461	17,8
Probe 3	1,382	61,9

#### KALIBRATION

Die in diesem Kit mitgelieferten Kalibratoren sind in IU/l angegeben und standardisiert, entsprechend WHO 1988 2. IS 80/552.

#### GRENZEN DES VERFAHRENS

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

#### TESTCHARAKTERISTIKA

##### Intra-Assay Präzision

Probe	n	MW ± 2SD (IU/l)	%CV
1	16	5,0 ± 0,4	4,0
2	16	16,2 ± 1,2	3,7
3	16	46,5 ± 3,0	3,2

##### Inter-Assay Präzision

Probe	n *	MW. ± 2SD (IU/l)	%CV
1	17	4,7 ± 0,8	8,5
2	17	19,3 ± 2,3	6,0
3	17	65,1 ± 9,0	6,9

\* Doppelbestimmung

##### Spezifität

Analyt	Konzentration	Scheinbares LH Gemessen	Ergebnis (mIU/l)
hCG	28000	IU/l	nicht nachweisbar
TSH	288	mIU/l	nicht nachweisbar
FSH	165	IU/l	nicht nachweisbar

##### Richtigkeit-Wiederfindung

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

Probe	LH (IU/l) Gemessen	LH (IU/l) Erwartet	% Wiederfindung
1	6,41	6,26	102,4
2	17,55	17,68	99,3
3	40,80	40,45	100,9
4	61,30	60,00	102,2

##### Richtigkeit-Verdünnung

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

Probe	LH (IU/l) Gemessen	LH (IU/l) Erwartet	% Wiederfindung
Net	48,31		
1/2	23,25	24,16	96,2
1/4	12,34	12,08	102,2
1/8	5,96	6,04	98,7
1/16	2,70	3,02	89,4

##### High-Dose Hook Effekt

Aufgrund des testcharakteristischen High-Dose-Hook-Effekts können Proben, die größer als 1000 IU/l sind, fälschlicherweise zu Ergebnissen führen, die unter denen des höchsten Kalibrators des Kits liegen. Diese Proben sollten mit Nullkalibrator verdünnt und neugetestet werden.

##### Sensitivität

Die Sensitivität des Tests liegt charakteristischerweise unter 0,5 IU/l. Die Nachweisgrenze dieses Assays ist definiert als die Analytkonzentration, die dem cpm-Mittelwert von 16 Bestimmungen des Nullkalibrators minus 2 Standardabweichungen in drei verschiedenen Assays entspricht.

##### Interferenz

Es wurden keine Interferenzen mit der Analytwiederfindung bei Hämoglobinkonzentrationen bis zu 250 mg/dl, Bilirubin bis 10 mg/dl und Triglyzeriden bis 970 mg/dl beobachtet.

#### BESTELLINFORMATION

Der *ELEGANCE* LH 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.: EKBLHG Ausg.5 Revision Datum: 26. Januar 2006