



BIOCLONE

ELEGANCE

PROGESTERON ELISA

KIT

REF 40 490096

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 Progesteron ELISA dient der quantitativen *in-vitro* diagnostischen Bestimmung von Progesteron (P_4) im Serum oder Plasma.

TESTPRINZIP

Dieser ELISA basiert auf einem Enzyme-Linked Immunoassay, bei dem monoklonale anti-Progesteron-Antikörper (Antikörperreagenz) und an Mikrotiterstreifen gebundene polyklonale anti-Maus IgG Antikörper eingelagert werden. Es handelt sich um eine ("kompetitive") 1-Schritt-Methode, bei der eine konjugierte Progesteron-Meerrettichperoxydase (P_4 -HRP) verwendet wird, um das erzeugte Signal zu produzieren. Während der Inkubation bilden sich Komplexe zwischen den monoklonalen Antikörpern und dem Probenantigen oder der P_4 -HRP. Dabei werden besagte Antikörper durch die an die Mikrotiterstreifen gebundenen sekundären Antikörper aufgefangen. Die Mikrotiterstreifen werden gewaschen, um alle ungebundenen Materialien zu entfernen. Nach dem Waschen reagiert die Substratlösung mit jeder gebundenen Peroxydase und entwickelt umgekehrt proportional zur Menge des Probeantigens Farbe, was anhand der Kalibratorkurve errechnet werden kann.

MITGELIEFERTE REAGENZIEN, 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.

Progesteron:

Beschichtete Mikrotiterstreifen 96 Vertiefungen REF # P4A96
Rack mit Mikrotiterstreifen, die mit anti-Maus IgG Antikörper beschichtet sind.
Gebrauchsfertig.

Progesteron:

Antikörperreagenz 1 Fläschchen REF # P4B96
5 ml Maus anti-Progesteron Antikörper in einer gepufferten Lösung, die Tierserumproteine und einen blauen Farbstoff enthält. Enthält Bronidox L, 0,2% v/v und Thiomersal, 0,01% w/v.
Gebrauchsfertig.

Progesteron:

Konjugiertes Reagenz 1 Fläschchen REF # P4C96
5 ml konjugierte Progesteron-HRP in einer gepufferten Lösung, die 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.

Substratlösung

TMB N

1 Fläschchen REF #TMB96

10 ml 3,3',5,5'-Tetramethylbenzin (TMB N) und Hydrogenperoxyd in einer Stabilisierlösung enthält. Gebrauchsfertig.

Progesteron: Kalibratoren

6 Fläschchen REF # EP4S1-6
2,0 ml in Kalibrator A und 0,5 ml in Kalibrator B-F, jeweils in Humanserum. Enthält Thiomersal, 0,01% w/v.
Lyophilisiert.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE FÜR DEN BENUTZER

Die Handhabung 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 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 Thiomersal und Bronidox L als Konservierungsstoffe. Da die Reagentien einen potentiell toxischen Konservierungsstoff enthalten, sollte vorsichtig mit diesen umgegangen werden, um Verschlucken oder Hautkontakt zu vermeiden.

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 kurz vor dem Testen durch Umdrehen über Kopf 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_2SO_4
- * 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 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, bei denen Verdacht auf Überschreitung 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 konjugierter Reagenz oder Substratlösung aufzufüllen, dann sollten die Mikrotiterstreifen maximal 15 Minuten lang über Kopf umgedreht auf flusenfreiem 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 Gebrauch entsprechend zu kalibrieren.

Waschen

Die Effizienz jedes Waschschriffs ist entscheidend für eine gute Präzision. Die Mikrotiterstreifen werden mit Hilfe eines automatischen Plattenwaschers gewaschen. Überschuppen von einer Vertiefung zur anderen ist zu vermeiden.

Qualitätskontrolle

Kontrollproben sollten bei jedem Test durchgeführt 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.

Kalibratoren

Zur Rekonstitution des lyophilisierten Kalibrators das auf jedem Flaschenlabel angegebene Volumen entionisierten Wassers zugeben. Fläschchen bis zur vollständigen Lösung ruhig stehen lassen (mindestens 30 Minuten) und dann vorsichtig durch Umdrehen über Kopf 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 erforderlichen Tests im Rack zusammenstellen. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen wieder einpacken 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 40 Minuten nicht überschreiten.

3. 50 µl Progesteron-konjugiertes Reagenz (purpurrot) in alle Vertiefungen pipettieren.

4. 50 µl Progesteron-Antikörperreagenz (blau) in alle Vertiefungen pipettieren.

5. Mikrotiterstreifen mit Deckel zudecken und 60 Minuten lang auf einem Plattenschüttler bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.

6. 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 einem saugfähigen Papier aufklopfen, um alle Waschlösungsreste zu entfernen. Sicherstellen, dass keine Luftblasen in den Vertiefungen zurückbleiben.

7. 100 µl Substratlösung (TMB N) in alle Vertiefungen pipettieren. Die Zeit des Inkubationsschrittes wird ab der Zugabe der Substratlösung zur ersten Vertiefung gemessen.

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

9. 50 µl einer 1M H₂SO₄ in alle Vertiefungen in der gleichen Zeitabfolge wie für die Substratlösungszugabe pipettieren.

KALIBRATION

Die Kalibratoren dieses Kits wurden in nmol/l standardisiert und angegeben. Die Umrechnung der Kalibratorgrößen ist mit nachfolgender Gleichung möglich:

$$\text{ng/ml } P_4 = \frac{\text{nmol/l } P_4}{3,18}$$

GRENZEN DES VERFAHRENS

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

10. Eine Endpunktablesung bei 450 nm durchführen und die Daten entsprechend den Angaben im Benutzerhandbuch des Mikroplattenlesers verarbeiten. Dieser Leseschritt sollte innerhalb von 15 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 Grafpapier 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 4-Parameter-Logistikinterpolation.

Die an dieser Kalibratorkurve gemessenen Probenwerte vom OD interpolieren. Den Wert jeder Probe in nmol/l P₄ angeben.

Der Bereich des *ELEGANCE* Progesteron ELISA reicht von 0 bis ungefähr 100 nmol/l, die aufzeichenbare minimalkonzentration wird jedoch durch die linearen Leistungsmerkmale des verwendeten Fotometers beschränkt.

Wenn der OD des Null- oder des niedrigsten Kalibrators über dem Bereich des Fotometers liegt, dann muss dieser Kalibrator aus der Zeichnung der Kalibratorkurve weggelassen werden.

BERECHNUNGSBEISPIELE

Endpunkt Daten	OD	P ₄ (nmol/l)
ID		
0	2,815	
1,0	2,230	
3,0	1,723	
10	0,867	
30	0,367	
100	0,128	
Probe 1	1,523	3,79
Probe 2	0,457	23,40
Probe 3	0,224	53,30

ERWARTETE WERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor auf Basis eines repräsentativen Kollektivs einen eigenen Referenzbereich ermittelt. Folgenden, für einen 95%-Vertrauensintervall errechneten Referenzbereich erhielt man durch Testen von Serumproben von Gesunden. Dieser dient nur als Beispiel:

	n	Bereich (nmol/l)	
Erwachsener Mann	68	< 4,5	(2,,2)
Erwachsene Frau			
Follikulärphase	36	0,7 - 3,5	(2,1)
Lutealphase	40	>> 5,0*	
Postmenopause	11	< 1,6	(0,7)

* normalerweise <60 nmol/l; () Ziffern in Klammern sind Durchschnittswerte

Während der Schwangerschaft

1. Vierteljahr	< 100	nmol/l
2. Vierteljahr	100 - 300	nmol/l
3. Vierteljahr	> 300	nmol/l

TESTCHARAKTERISTIKA

Intra-Assay Präzision

Probe	n	MW ± 2SD (nmol/l)	%CV
1	16	3,35 ± 0,34	5,1
2	16	18,50 ± 0,91	2,5
3	16	41,40 ± 2,62	3,2

Inter-Assay Präzision

Probe	n *	MW. ± 2SD (nmol/l)	%CV
1	40	3,40 ± 0,59	8,7
2	40	19,90 ± 2,87	7,2
3	40	46,40 ± 6,79	7,3

* Doppelbestimmung

Richtigkeit-Wiederfindung

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

Probe	P ₄ (nmol/l) Gemessen	P ₄ (nmol/l) Erwartet	% Wiederfindung
1	4,64	4,77	97,3
2	5,36	5,12	104,6
3	5,79	6,12	94,6
4	8,59	9,62	89,3

Verdünnung

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

Probe	P ₄ (nmol/l) Gemessen	P ₄ (nmol/l) Erwartet	% Wiederfindung
Net	21,0		
1/2	10,4	10,5	99,0
1/4	5,1	5,3	97,1
1/8	2,5	2,6	96,2

Spezifität

Analyt	% Kreuzreaktivität
Progesteron*	100,00
17α-OH-Progesteron	1,80
Pregnenolon	1,10
Deoxycorticosteron	0,47
Androstenediol	<0,20
Cholesterin	<0,20
Corticosteron	>0,20
Cortisol	<0,20
11-Deoxycortisol	<0,20
17α-Oestradiol	<0,20
17β-Oestradiol	<0,20
Oestriol	<0,20
Oestron	<0,20
Pregnanolon	<0,20
20α-OH-Progesteron	<0,20
20β-OH-Progesteron	<0,20
Testosteron	<0,20

Sensitivität

Die Sensitivität des Tests liegt charakteristischerweise unter 0,25 nmol/l. Die Nachweisgrenze dieses Assays wird als die Analytkonzentration definiert, die dem cpm-Mittelwert von 20 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* Progesteron 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