



ELEGANCE

FT₄ ELISA KIT

REF 40 465096

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 FT₄ ELISA** dient der quantitativen *in vitro* diagnostischen Bestimmung von freiem Thyroxin (FT₄) im Serum oder Plasma.

TESTPRINZIP

Dieser ELISA basiert auf einem Enzyme-Linked Immunoassay, bei dem monoklonale anti-T₄ Antikörper (Antikörperreagenz) und an Mikrotiterstreifen gebundene polyklonale anti-Maus-IgG Antikörper eingelagert werden. Es handelt sich um eine 2-Schritt-Methode ("Rücktitrierung"), bei der eine konjugierte T₄ Meerrettichperoxydase (T₄-HRP) verwendet wird, um das erzeugte Signal zu produzieren. Während der Inkubation bilden sich Komplexe zwischen den Antikörpern und dem Probenantigen. Die Mikrotiterstreifen werden gewaschen, um alle ungebundene Materialien zu entfernen. T₄-HRP (konjugiertes Reagenz) wird zugegeben und bindet sich an die freien Antigen-Bindungsstellen des monoklonalen Antikörpers. 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.

FT₄: Beschichtete Mikrotiterstreifen

96 Vertiefungen REF # T4A96
Rack mit Mikrotiterstreifen, die mit anti-Maus IgG Antikörper beschichtet sind. Gebrauchsfertig.

FT₄: Antikörperreagenz

1 Fläschchen REF # T4B96
10 ml Maus anti-T₄ Antikörper in einer gepufferten Lösung, die Tierserum und einen blauen Farbstoff enthält. Enthält Natriumazid, 0,1% w/v. Gebrauchsfertig.

FT₄: Konjugiertes Reagenz

1 Fläschchen REF # T4C96
10 ml konjugierte T₄-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.

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 Tabletten
Orthophenylendiamin (OPD) mit inaktiven Bestandteilen

FT₄: Kalibratoren

6 Fläschchen REF # ET4S1-6

0,25 ml jeweils in Human serum. Enthält Natriumazid, 0,1% w/v. Gebrauchsfertig.

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 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 Reagentien 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 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
- * 1 M H₂SO₄
- * Präzisionspipetten
- * Multipipette
- * 11 Messzylinder
- * Saugfähiges Papier (flusenfrei)
- * Timer
- * Vortexmischer
- * Mikrotiterplattenschüttler
- * Mikrotiterplattenwascher
- * 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. 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 Vertiefungen maximal 15 Minuten lang über Kopf umgedreht auf flusenfreiem Saugtuch stehen gelassen werden. Die Reagentien sind aufeinander abgestimmt, daher sollten Reagentien unterschiedlicher Lotnummern nicht miteinander 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 Kontrollwerte innerhalb der vorgegebenen Bereiche liegen.

TESTVERFAHREN

Vorbereitung der Reagentien

Waschlösung

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

Substratlösung

Es empfiehlt sich, dieses Reagenz unmittelbar vor Gebrauch vorzubereiten. Die richtige Anzahl von OPD-Tabletten in die erforderliche Menge Substratpuffer geben. 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.

Starke Lichteinstrahlung ist zu vermeiden. Die Substratlösung ist innerhalb von 30 Minuten nach der Vorbereitung zu verwenden.

Kalibratoren

Fläschchen durch Umdrehen über Kopf vorsichtig mischen. Die exakten chargenabhängigen Konzentrationen sind auf einem separaten im Kit enthaltenen Blatt angegeben. Die Kalibratoren sind bei -20°C bis zu 4 Wochen lagerbar.

Protokoll

1. Mikrotiterstreifen entsprechend der Anzahl der erforderlichen Tests im Rack zusammenstellen. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen wieder verpacken 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 40 Minuten nicht überschreiten.
3. 100 µl FT₄ Antikörperreagenz (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 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 FT₄ konjugiertes Reagenz (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.
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 H₂SO₄ 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 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 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 Probewerte vom cpm-MW interpolieren. Den Wert jeder Probe in pmol/l FT₄ angeben. Der Bereich des *ELEGANCE* FT₄ ELISA reicht von 0 bis ungefähr 125 pmol/l, die aufzeichenbare Minimumkonzentration wird jedoch durch die linearen Leistungsmerkmale des verwendeten Fotometers beschränkt.

Wenn der OD des Null oder des niedrigsten Kalibrators oberhalb des Bereichs des Fotometers liegt, dann muss dieser Kalibrator aus der Zeichnung der Kalibratorkurve weggelassen werden.

BEISPIELBERECHNUNGEN

Endpunkt Daten

ID	Ave OD	FT ₄ (pmol/l)
0	2,774	
4,99	2,412	
10,7	2,203	
25,7	1,650	
58,8	1,228	
125	1,036	
Probe 1	2,446	5,38
Probe 2	1,442	37,30
Probe 3	1,092	93,80

ERWARTETE WERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor auf Basis eines repräsentativen Kollektivs einen eigenen Referenzbereich ermittelt. Der nachfolgende, mit einem 95% Vertrauensbereich berechnete Referenzbereich ist das Ergebnis von Tests an Serumproben von Gesunden und dient nur als Beispiel:

	n = 159
Euthroidproben	
Durchschnittswert	6,2 pmol/l
Bereich der erh. Werte	9,3 - 24,9 pmol/l
Referenzbereich	10,7 - 21,7 pmol/l

TESTCHARAKTERISTIKA

Intra-Assay Präzision

Probe	n	MW. ± 2SD (pmol/l)	%CV
1	14	7,3 ± 1,4	9,6
2	14	14,8 ± 1,6	5,4
3	14	40,4 ± 2,1	2,6

Inter-Assay Präzision

Probe	n *	MW. ± 2SD (pmol/l)	%CV
1	40	6,5 ± 1,9	14,6
2	40	17,8 ± 2,7	7,6
3	40	41,2 ± 4,5	5,5

* Doppelbestimmung

Spezifizität

Analyt	% Kreuzreaktivität
D-Thyroxin	0,50
L-3,3',5-Triiodthyronin (T ₃)	<0,01
L-3,3',5-Triiodthyronin (rT ₃)	<0,01
L-3,5-Diiodthyronin (DIT)	<0,01
Natriumsalicylat	<0,01
O-Acetylsalicylsäure	<0,01
Methimazol	<0,01
Phenylbutazon	<0,01
5,5-Diphenylhydantion	<0,01

Sensitivität

Die Sensitivität des Tests liegt charakteristischerweise unter 2 pmol/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* FT₄ 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.:EKBT4G Ausg. 7 Revision Datum:17 Können Sie 2009

KALIBRATION

Zur Kalibration, der in pmol/l angegebenen Kalibratoren dieses Kits wurde eine Equilibriumdialyse verwendet. Die Umrechnung der Kalibratormasseinheiten ist mit nachfolgender Gleichung möglich:
ng/dl FT₄ = pmol/l FT₄ x 0,078

GRENZEN DES VERFAHRENS

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

Vermeiden Sie wärmebehandelte Proben, da diese aufgrund der Denaturierung der Bindungsproteine und der Störung des freien/gebundenen T₄ Gleichgewichts zu hohen FT₄ Werten führen können.

Proben von Patienten mit hohen zirkulierenden Antimausantikörperkonzentrationen infolge einer Therapie mit monoklonalen Mausantikörpern führen zu falschen hohen oder niedrigen Konzentrationen. Diese Proben sollten nicht mit diesem Kit getestet werden.