



BIOCLONE

# ELEGANCE NEONATAL TSH ELISA KIT

REF 40 450480

REF 40 452400

Σ 480

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 TSH ELISA dient der quantitativen *in-vitro*-diagnostischen Bestimmung des thyroideastimulierenden Hormons (TSH) beim Screening humaner neonataler Blutflecken entwickelt.

## GRUNDPRINZIPIENDES

### *ELEGANCE* ELISA

Der ELISA ist ein Enzyme-Linked Immuno-Assay. Das TSH wird zuerst aus dem Blutleck eluiert und gleichzeitig bindet sich das eluierte TSH an die anti-TSH Antikörper auf den Mikrotiterstreifen. Das Probeantigen wird "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 Stellen. Nach dem Waschen reagiert die Substratlösung mit jeder gebundenen Peroxydase, um Farbe in direkter Proportionalität mit der Anzahl des Probeantigens zu entwickeln, das von der Kalibratorkurve abgelesen werden kann.

### *ELEGANCE* MITGELIEFERTE REAGENZIEN, STABILITÄT UND LAGERUNG

Kitgröße - 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 TSH:

### Beschichtete Mikrotiterstreifen

#### 1 x 96 Vertiefungen

REF # TNA96

#### 5 x 96 Vertiefungen

REF # TNA5

#### (25 x 96 Vertiefungen)

REF # TNA25

Rack mit Mikrotiterstreifen, die mit anti-TSH Antikörper beschichtet sind. Gebrauchsfertig.

## Neonatal TSH:

### Antikörperreagenz

#### 1 Fläschchen REF # TNB480

(1 Fläschchen REF # TNB25)

50 (250) ml biotiniertes anti-TSH Antikörper in einer gepufferten Lösung, die Rinderserumalbumin, nicht immun Tiersera und einen blauen Farbstoff enthält. Enthält Natriumazid, 0,2% w/v und Thiomersal, 0,01% w/v. Gebrauchsfertig.

## Neonatal TSH:

### Amplifikationsreagenz

#### 1 Fläschchen REF # TNP480

(1 Fläschchen REF # TNP25)

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 REF # EWC5

(2 Fläschchen REF # EWC25)

250 (500) ml einer 15fach konzentrierten Waschlösung. Enthält Thiomersal, 0,09% w/v. Vor Gebrauch verdünnen.

## Elutionspuffer

### 1 Fläschchen REF #EEB5

(1 Fläschchen REF #EEB25)

50 (250) ml, gepufferte Lösung, die Rinderserumalbumin enthält.

Enthält Natriumazid, 0,1% w/v.

Gebrauchsfertig.

## Substratlösung

### TMBH

#### 1 Fläschchen REF # ETMB5

(1 Fläschchen REF # ETMB25)

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

Tetramethylbenzidin und

Hydrogenperoxydase in einer

Stabilisierlösung. Gebrauchsfertig.

## Stopplösung

#### 1 Fläschchen REF # ESS5

(1 Fläschchen REF # ESS25)

30 (124) ml 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Gebrauchsfertig.

## Neonatal TSH: Blutflecken

### Kalibratoren und Kontrollen

#### 1 Set REF # ETNS6

(4 Sets REF # ETNS7)

Getrocknete menschliche

Blutflecken mit 6 Kalibratoren (A-F)

und 2 Kontrollen (1-2) auf

Filterpapier. Gebrauchsfertig.

## 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.

### Proben und Kalibratoren

Die Ausgangsstoffe der Blutflecken

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 Konservierungstoff

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 Stopplösung

Jeglichen Hautkontakt vermeiden.

## PROBENENTNAHME UND

### HANDHABUNG

Der *ELEGANCE* Neonatal TSH

ELISA dient zur Verwendung von

neonatalen, durch Piekern der Ferse

abgenommenen und auf Filterpapier

gemäß der NCCLS LA4A

Richtlinien (insofern anwendbar)

getrockneten Blutproben.

Nabelschnurblut kann jedoch nach

einer Prüfung des Prozesses

verwendet werden. Das Filterpapier

sollte vom Typ Schleicher sein und

Schuell Grad 903 aufweisen, damit

die Proben äquivalent zu den

mitgelieferten Kalibratoren und

Kontrollen sind.

Blut von den Fersen Neugeborener

wird durch Piekern 3-5 Tage nach

der Geburt abgenommen. Einen

Blutleck, der einen kreisförmigen

Probereich auf dem Filterpapier

deckt, erhält man durch einmalige

Anwendung des Filterpapiers auf

einem Blutropfen, der aus der

angepiekten Ferse des

Neugeborenen gewonnen wird.

Der Blutleck 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 (20-25°C)

getrocknet werden.

## ERFORDERLICHES, NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL UND GERÄT

- \* Destilliertes oder entionisiertes Wasser
- \* Kreisstanze (3 mm)
- \* Pinzette
- \* Multipipette
- \* 1l Messzylinder
- \* saugfähiges 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).

Es empfiehlt eine

Doppelbestimmung. 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 15

Minuten lang

(Amplifikationsreagenz) und

60 Minuten lang (Substratlösung)

stehen gelassen werden. Die

Reagenzien sind 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.

### 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.

#### Kalibratoren und Kontrollen

Die exakten chrgenabhängigen

Konzentrationen sind auf einem

separaten Blatt der jeweiligen

Blutleckensets angegeben.

Zum Vermeiden von Kondensation

die Blutflecken nicht vor der

Temperaturangleichung öffnen.

Nicht verwendete Blutleckenstreifen wieder in Plastikbeutel versiegeln und bei 2-8°C lagern.

#### Protokoll

1. Mikrotiterstreifen entsprechend der Anzahl der geforderten Tests im Rack zusammenstellen. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen wieder einpacken und bei 2-8°C lagern.
2. Eine einzelne 3 mm Scheibe (Kalibrator, Kontrolle, Probe) in die entsprechenden Vertiefungen geben Doppelbestimmung. Rand des Blutflecken beim Ausstanzen der Probe vermeiden.
3. 100 µl Elutionspuffer (klar) in alle Vertiefungen pipettieren.
4. Mikrotiterstreifen mit Deckel abdecken und 60 Min. auf einem Plattenschüttler bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.
5. 100 µl Neonatal TSH Antikörperreagenz (blau) in alle Vertiefungen pipettieren.
6. Mikrotiterstreifen mit Deckel abdecken und 60 Min. lang auf einem Plattenschüttler (20-25°C) inkubieren.
7. Nach der Inkubation die Scheiben entfernen.
8. 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.
9. 100 µl Neonatal TSH Amplifikationsreagenz (purpurfarben) in jede Vertiefung pipettieren.
10. Mikrotiterstreifen mit Deckel abdecken und 10 Min. lang auf einem Plattenschüttler bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.
11. Nach der Inkubation Waschschrift wiederholen.
12. 100 µl Substratlösung in alle Vertiefungen pipettieren. Die Zeit des Inkubationsschrittes wird ab der Zugabe der Substratlösung zur ersten Vertiefung gemessen.
13. Mikrotiterstreifen mit Deckel abdecken und 10 Min. lang ohne Schütteln bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.
14. 50 µl Stopplösung in der gleichen Zeitabfolge wie für die Substratlösungszugabe in alle Vertiefungen pipettieren.

15. Eine Endpunktablesung durchführen bei 450 nm durchführen und die Daten wie im Benutzerhandbuch des Mikroplattenlesers aufgeführt verarbeiten. Dieser Leseschritt sollte innerhalb von 5 Min. ab dem Reaktionsstopp durchgeführt werden.

#### BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Die Berechnung der Ergebnisse ist manuell möglich, wenn keine automatische Datenauswertung vorhanden ist. Od-Mittelwert für jede Vertiefung bestimmen. Kalibratorkurve auf einem log-log-Grafikpapier mit den Konzentrationen des Kalibrators auf der X-Achse und den Od-Mittelwerten auf der Y-Achse zeichnen. Die Kurve kann von Punkt zu Punkt oder mit Hilfe einer Kurvenschablone, wie zum Beispiel Splineinterpolation, gezeichnet werden. Die an dieser Kalibratorkurve gemessenen Probewerte vom Od-Mittelwert interpolieren. Den Wert jeder Probe in mIU/l des Gesamtblut-TSH aufzeichnen. Der Bereich des *ELEGANCE* Neonatal TSH reicht von 0 bis ungefähr 250 mIU/l Gesamtblut, die aufzeichnenbare Maximalkonzentration wird jedoch durch die linearen Leistungsmerkmale des verwendeten Fotometers beschränkt.

Wenn der Od Mittelwert des höchsten Kalibrators über dem Bereich des Fotometers liegt, dann muss dieser Kalibrator aus der Zeichnung der Kalibratorkurve weggelassen werden. Auf ähnliche Weise sollte jede über dem Bereich des Mikroplattenlesers liegende Probenmessung einfach als größer als der höchste zulässige Kalibrator vermerkt werden.

#### MODELLBERECHNUNGEN

Endpunkt ID	Daten Od-MW	TSH (mIU/l)
0	0,038	
6,11	0,088	
11,3	0,163	
26,0	0,359	
96,0	1,345	
231	3,009	
Probe 1	0,244	17,30
Probe 2	0,955	66,90
Probe 3	0,104	7,42

#### ERWARTETE WERTE

Jedes Labor sollte auf der Basis eines repräsentativen Kollektivs einen eigenen Referenzbereich festlegen. In der Regel wird bei Neugeborenen 3-5 Tage nach der Geburt ein Anhaltewert von 20 mIU/l Gesamtblut verwendet. Probenmessungen unter dem angenommenen positiven Anhaltewert werden als normal betrachtet. Tatsächliche Fälle von angeborenem Hypothyroidismus ergeben mindestens 40 mIU/l Gesamtblut, wurden aber so niedrig wie 25 mIU/l Gesamtblut aufgezeichnet.

#### TESTCHARAKTERISTIKA

##### Intra-Assay Präzision

Probe	n	MW. ± 2SD (mIU/l Gesamtblut)	%CV
1	20	4,9 ± 0,57	5,8
2	20	14,5 ± 2,00	6,9
3	20	41,7 ± 3,20	3,8

##### Inter-Assay Präzision

Probe	n *	MW. ± 2SD (mIU/l Gesamtblut)	%CV
1	11	6,1 ± 0,85	7,0
2	11	16,6 ± 2,10	6,3
3	11	37,8 ± 2,80	3,7

\*(Vierfachbestimmung)

##### Spezifität

Analyt	Konzentration Gemessen	scheinbares TSH (mIU/l Gesamtblut)	Kreuzreaktivität
LH	450 IU/l	<1	nicht nachweisb.
FSH	450 IU/l	<1	nicht nachweisb.
hCG	45,000 IU/l	<1	nicht nachweisb.
TSH	57,4 mIU/l	56,8	99%

##### Genauigkeit

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

Probe	Gemessenes TSH (mIU/l)	Erwartetes TSH (mIU/l)	% Wiederfindung
1	16,4	16,9	97,0
2	21,8	23,0	94,8
3	64,7	63,1	102,5

##### Verdünnung

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

Probe	Gemessenes TSH (mIU/l Gesamtblut)	Erwartetes TSH (mIU/l Gesamtblut)	% Wiederfindung
Net.	33,2		
1/2	16,7	16,6	100,6
1/4	8,8	8,3	106,0
1/8	4,5	4,2	107,1

##### High-dose Hook Effekt

Testcharakteristisch wurde kein Hook-Effekt für Testproben mit TSH-Werten bis einschließlich der Testgrenze von 4700 mIU/l Gesamtblut festgestellt.

##### Sensitivität

Die Sensitivität des Assays liegt charakteristischerweise unter 1 mIU/l. Die Nachweisgrenze dieses Assays wird als die Analytkonzentration definiert, die dem Od-Mittelwert von 28 Bestimmungen des Nullkalibrators minus 2 Standardabweichungen in drei verschiedenen Assays entspricht.

#### BESTELLINFORMATION

Der *ELEGANCE* NEONATAL TSH 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

#### GRENZEN DES VERFAHRENS

Der Test sollte nicht benutzt werden, um Hypothyreose in denen zu ermitteln, die transfused oder Antikörpertherapiebehandlungen oder in vorzeitig geborenen Kindern gegeben gewesen sind.

#### KALIBRATION

Die in diesem Kit mitgelieferten Kalibratoren und Kontrollen wurden aus menschlichem Blut mit einem Hämatokritwert von 55% (v/v) vorbereitet und werden in mIU/l Gesamtblut ausgedrückt (WHO 1. IRP 68/38 für hTSH). Die Umrechnung der Standardeinheiten kann man mit Hilfe der nachfolgenden Formel durchführen:

$$\text{mIU/l Serum} = \text{mIU/l Gesamtblut} \times 2,2$$

TEILENUMMER.: EKB TNG Ed 10 Revision Datum: 18 September 2010