



ALS RIA KIT

REF 10 ALS50
Σ 50

REF 10 ALS100
Σ 100

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

EC REP Hitachi Chemical Diagnostics Inc.
Hitachi Europe Limited, Whitebrook Park, Lower Cookham Road
Maidenhead, Berkshire, SL6 8YA, UK. Phone: +44 1628 585 591

VERWENDUNGSZWECK

Der ALS RIA dient der quantitativen in-vitro-diagnostischen Bestimmung des ALS (säurelabile Untereinheit) im Serum oder Plasma.

TESTPRINZIP

Dieser RIA basiert auf einem Doppelantikörper-RadiomunoAssay-System. Der Analyt konkurriert in verdünnten Proben und Kalibratoren mit dem ¹²⁵I-markiertem Tracer-Antikörper um die Bindung an eine konstante Antikörpermenge. Ein zweiter, an magnetisierbare Polystyrolpartikel (Trennreagenz) gekoppelter Antikörper wird zur Trennung von antikörpergebundenem und ¹²⁵I-markiertem Tracer-Antikörper verwendet. Nach erfolgter Sedimentation wird der Überstand entfernt und das Pellet mit der gebundenen Radioaktivität in einem Gammacounters gezählt. Die Konzentration des Analyten ist umgekehrt proportional zur gebundenen Radioaktivität in den Pellets. Die Counts der Kalibratoren werden grafisch dargestellt und die Probenenergebnisse werden aus der erstellten Kalibrator Kurve abgelesen.

MITGELIEFERTE REAGENZIEN, STABILITÄT UND LAGERUNG

Kitgröße - 50 Tests und 100 Tests (in Klammern). Der Kit und alle Komponenten sollten geöffnet oder ungeöffnet bei 2-8°C innerhalb des angegebenen Verfalldatums gelagert werden.

ALS: Tracer

1 Fläschchen REF # ALI1
(1 Fläschchen REF # ALI2)
5,5 (10,5) ml ¹²⁵I- markierte ALS (≤40µCi) in BSA-PBS-Puffer, der einen roten Farbstoff enthält. Enthält Natriumazid, (NaN₃), 0,1% w/v. Gebrauchsfertig.

ALS: Antiserum

1 Fläschchen REF # ALA1
(1 Fläschchen REF # ALA2)
5,5 (10,5) ml, das in BSA-PBS-Puffer verdünntes Kaninchen-ALS-Antiserum und einen blauen Farbstoff enthält. Enthält NaN₃, 0,1% w/v. Gebrauchsfertig.

Trennreagenz

1 Fläschchen REF # SEP1
(1 Fläschchen REF # SEP2)
13 (26) ml, das Ziegen-anti-Kaninchen-Antikörper enthält, die an magnetisierbare Polystyrolpartikel in BSA-PBS-Puffer gekoppelt sind. Enthält NaN₃, 0,1% w/v. Vor Gebrauch vorsichtig mischen.

ALS: Kalibratoren

1 Fläschchen REF # ZC1
(1 Fläschchen REF # ZC2)
25 (50) ml, wobei jeder Kalibrator A (0 nmol/l Konzentrat) jeweils eine 4-fach konzentrierte BSA-PBS-Pufferlösung enthält. Enthält NaN₃, 0,4% w/v. Vor Gebrauch verdünnen.

5 Fläschchen REF # ALS2-6
1,0 ml, jeder Kalibrator B-F in BSA-PBS-Puffer. Enthält NaN₃, 0,1% w/v. Lyophilisiert.

ALS: Kontrollen

2 Fläschchen REF # ALC1-2
1,0 ml, jeweils in BSA-PBS-Puffer. Enthält NaN₃, 0,1% w/v. Lyophilisiert. **Nicht verdünnen.**

VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE FÜR DEN BENUTZER

Handhabung der Proben und Komponenten des Kits, deren Verwendung, Lagerung und Entsorgung sollte gemäß der lokalen oder nationalen Laborsicherheitsvorschriften oder Richtlinien erfolgen.

Proben, Kalibratoren und Kontrollen

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 wurden insgesamt als nicht reaktiv befunden. Trotzdem empfiehlt es sich, alle Proben als potentiell infektiös zu betrachten.

Konservierungsstoffe

Dieser Kit enthält Natriumazid als Konservierungsstoff. 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.

Radioaktives Material

Der Tracer enthält radioaktives Material.

PROBENTNAHME UND HANDHABUNG

Keine spezielle Patientenvorbereitung notwendig. Als Probenmaterial kann man Serum oder Plasma verwenden, das labortestgerecht zu entnehmen ist. Serum ist vorzuziehen, trotzdem können die Antikoagulanzen Heparin oder EDTA ohne Genauigkeitseinbußen verwendet werden. Stark hämolysierte, lipämische und trübe Proben sind zu vermeiden. 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 Gebrauch gemischt werden. Trübe Proben oder Proben, die Partikel enthalten, sollten vor Gebrauch zentrifugiert werden.

ERFORDERLICHES, NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL UND GERÄT

- * Destilliertes und entionisiertes Wasser
- * Einwegkunststoffströhrchen mit Deckel 12 x 75 mm
- * Präzisionspipetten
- * Multipipetten
- * Vortexmischer
- * Rollmischer
- * Timer
- * Magnetrack
- * Saugfähiges Papier
- * Gammacounter

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 Kalibrator Kurve angelegt werden. [> Oberst calibrator, in null verdünnt zu werden]. Alle Testschritte sollten ohne Unterbrechung durchgeführt werden. Die Reagentien sind aufeinander abgestimmt, daher sollten Reagentien unterschiedlicher Lotnummern nicht untereinander gemischt werden. Der Gammacounter und alle Pipetten sind vor Gebrauch entsprechend zu kalibrieren.

Qualitätskontrolle

Kontrollproben sollten bei jedem Test vorgenommen werden, um eine korrekte Testdurchführung zu garantieren. Vor der Freigabe der Testergebnisse sollten die Kontrollwerte innerhalb der vorgegebenen Bereiche liegen.

TESTVERFAHREN

Vorbereitung der Reagentien Kalibratoren und Kontrollen.

Zur Rekonstitution der lyophilisierten Kalibratoren und Kontrollen das auf jedem Fläschchenlabel angegebene Volumen entionisierten Wassers zugeben. Fläschchen bis zur vollständigen Lösung ruhig stehen lassen (min. 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 sollten Kalibratoren und Kontrollen bei -20°C gelagert werden.

Verdünnungsprozedur

Kalibrator A
0 nmol/l Konzentrat
Kalibrator A im Verhältnis 1 zu 4 mit entionisiertem Wasser verdünnen. Wenn der Kalibrator A kristallisiert ist, auf 37°C erwärmen. Die Kalibrator A-Lösung wird auch als Probenverdünnungslösung verwendet und kann bei 2-8°C innerhalb des angegebenen Verfalldatums gelagert werden.

Probenvorbereitung

Die Proben (nicht die Kalibratoren/ Kontrollen) 1 zu 200 verdünnen.
1. Verdünnungsröhrchen kennzeichnen (1 pro Probe).

- 10 µl Probe pipettieren, 1,99 ml Kalibrator A Verdünnung zugeben. Vortexen.

Trennreagenz

Vor Gebrauch gut auf einem Rollmischer mischen.

Protokoll

- Röhrchen entsprechend der Anzahl der erforderlichen Tests zusammenstellen und kennzeichnen (Doppelbestimmung). Inkl. Totalaktivität (TA), nicht-spezifische Bindung (NSB), Kalibratoren, entnommene Kontrollen / Proben.
- 200 µl Kalibrator A doppelt in die NSB Röhrchen pipettieren.
- 100 µl Probe (Kalibrator, entnommene Kontrolle/Probe) in die entsprechenden Röhrchen pipettieren (Doppelbestimmung).
- 100 µl ALS Antiserum (blau) in alle Röhrchen pipettieren, mit Ausnahme der NSB und TA.
- 100 µl ALS Tracer (rot) in alle Röhrchen pipettieren.
- Röhrchen vorsichtig vortexen und über Nacht (16-24 h) ohne Schütteln bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren. Alle Röhrchen sollten purpurrot sein, mit Ausnahme der NSB und TA Röhrchen.

BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Die Berechnung der Ergebnisse ist manuell möglich, wenn keine automatische Datenauswertung vorhanden ist. Die Kalibratoren wurden so hergestellt, dass man eine Probe 1 zu 200 verdünnen kann.

- Cpm-MW für Doppelbestimmung bestimmen.
- Kalibratorkurve auf Semilog- oder Loglinearpapier nach folgender Methode auftragen:

Berechnung von %B/T:

$$\%B/Bo = \frac{\text{cpm (Probe)} - \text{cpm (NSB)}}{\text{cpm (Kalibrator A)} - \text{cpm (NSB)}} \times 100$$

- %B/Bo in die Y-Achse gegen die entsprechenden Kalibratorkonzentrationen auftragen.
- Proben direkt aus der Kalibratorkurve in nmol/l ablesen.

BERECHNUNGSBEISPIELE

ID	cpm-MW	%B/Bo	ALS (nmol/l)
TA	24059		
NSB	373		
0	11622	100,0	
10	10010	85,7	
30	8349	70,9	
100	5107	42,1	
300	2665	20,4	
1000	1276	8,0	
Kontrolle 1	7130	63,4	49,0
Kontrolle 2	3516	27,9	196,0
Probe 1	5122	42,2	102,0

KALIBRATION

Die in diesem Kit mitgelieferten Kalibratoren sind auf hoch gereinigtes ALS (MG = 63.300; referenziert durch Aminosäureanalyse) kalibriert.

Diese sind in nmol/l angegeben.

Umrechnung der Kalibratoreinheiten:

$$1,0 \text{ ig/ml ALS} = 15,8 \text{ nmol/l ALS}$$

GRENZEN DES VERFAHRENS

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

Proben, die eine merkliche Hintergrundradioaktivität besitzen, sollten nicht verwendet werden. Jede Probe mit entsprechendem Verdacht sollte vor der Testdurchführung auf Radioaktivität geprüft werden und solange gelagert werden bis die Radioaktivität abgeklungen ist oder es sollte eine neue Probe angefordert werden.

- Am Ende der Inkubationszeit 250 µl der vorsichtig gemischten Trennreagenz in alle Röhrchen pipettieren, mit Ausnahme der TA und mischen. TA Röhrchen zur Seite stellen und 15 Minuten ohne Schütteln bei Raumtemperatur (20-25°C) inkubieren.

8a. Zum Trennen der gebundenen on ungebundenen Antikörper die Teströhrchen in das Magnettrennrackl stellen und sicherstellen, dass alle Teströhrchen mit der magnetischen Bodenplatte in Kontakt sind. 2 Minuten stehen lassen.

8b. Rack nicht von der magnetischen Bodenplatte entfernen. Überstanddekantieren und magnetische Bodenplatte in umgekehrter Position halten. Röhrchen fest auf saugfähigem Papier aufklappen und die Ränder abstreifen, um alle Flüssigkeitsreste zu entfernen.

9. Röhrchen mit Hilfe eines Gamma counters eine Minute lang zählen. Längeres Zählen reduziert statistische Zählfehler. Cpm jedes Röhrchens aufzeichnen.

10. Ergebnisse berechnen.

ERWARTETE WERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor auf Basis eines repräsentativen Kollektivs einen eigenen Referenzbereich ermittelt. Folgender Referenzbereich wurde durch Messung von Serumproben an Gesunden ermittelt und dient nur als Beispiel:

Alter (Jahre) n (Mann & Frau)	MW	SD	Median	5. Perzentile	95. Perzentile
0	30	80,2	62,4	72,4	17,7
1 - 3	45	103,0	58,1	103,0	33,6
4 - 6	34	123,0	67,1	133,0	6,1
7 - 9	43	173,0	107,0	166,0	77,2
10 - 12	40	222,0	150,0	241,0	117,0
13 - 15	54	261,0	140,0	267,0	132,0
16 - 18	27	291,0	109,0	296,0	200,0
19 - 30	104	223,0	96,7	226,0	130,0
31 - 40	55	211,0	75,1	208,0	114,0
41 - 50	76	203,0	65,2	208,0	109,0
51 - 60	57	182,0	58,9	178,0	88,1
61 +	18	172,0	54,6	171,0	87,1

TESTCHRAKTERISTIKA

Intra-Assay Präzision

Probe	n	MW. ± 2SD (nmol/l)	%CV
A	22	26,1 ± 1,4	5,0
B	22	48,5 ± 2,6	5,4
C	22	207,0 ± 5,8	2,8
D	22	488,0 ± 20,0	4,1

Inter-Test Präzision

Probe	n *	Durchs. ± 2SD (nmol/l)	%CV
E	39	50,6 ± 2,1	4,2
F	39	104,0 ± 3,6	3,5
G	39	176,0 ± 6,9	3,9
H	39	208,0 ± 8,2	3,9
I	39	344,0 ± 16,7	4,9

* Doppelbestimmung

Spezifität

Analyt	Konzentration Gemessen	Scheinbares ALS Ergebnis (nmol/l)
IGFBP-1	1000 ng/ml	nicht nachweisbar
IGFBP-2	1000 ng/ml	nicht nachweisbar
IGFBP-3	100 µg/ml	nicht nachweisbar
IGF-I	4000 ng/ml	nicht nachweisbar
IGF-II	4000 ng/ml	nicht nachweisbar

Richtigkeit-Wiederfindung

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

Probe	ALS (nmol/l) Gemessen	ALS (nmol/l) Erwartet	% Wiederfindung
1	57,6	55,4	104,0
2	75,3	73,8	102,0
3	296	292,0	101,3
4	580	568,0	102,1

Richtigkeit-Verdünnung

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

Probe	ALS (nmol/l) Gemessen	ALS (nmol/l) Erwartet	% Wiederfindung
Net.	446,0		
1/2	242,0	223,0	109,0
1/4	116,0	112,0	104,0
1/8	59,1	55,8	106,0
1/16	25,9	27,9	92,8

Sensitivität

Die Nachweisgrenze dieses Assays, definiert als die Analytkonzentration, die dem cpm-Mittelwert von 9 Bestimmungen des Nullkalibrators minus 2 Standardabweichungen in drei verschiedenen Assays entspricht, liegt charakteristischerweise unter 4 nmol/l. Für die tatsächliche ALS Konzentration beträgt die Empfindlichkeit 0,02 nmol/l.

Interferenz

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

BESTELLINFORMATION

Der ALS RIA wird hergestellt durch:

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