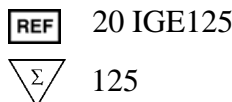


# Total-IgE IRMA Kit



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 IgE IRMA dient der quantitativen *in-vitro*-diagnostischen Bestimmung des Gesamt-Immunglobulins E (IgE) im Serum oder Plasma.

## GRUNDPRINZIPIEN DES IRMA

Dieses verfahren basiert auf einem Doppelantikörper-Immuniometrie-Assay-System. Die Probe wird mit monoklonalen anti-human-IgE inkubiert, die an magnetisierbare Polystyrolteilchen (Festphase) bei 37°C gebunden sind. Die <sup>125</sup>I-markierten polyklonalen Ziegen-anti-human-IgE werden hinzugefügt und eine zweite Inkubation findet bei 37°C statt. Nach der Inkubation wird das resultierende „Sandwich“ sedimentiert, dekantiert und gewaschen, um die ungebundenen <sup>125</sup>I-markierten Antikörper zu entfernen. Die Röhren mit den sedimentierten „Sandwichs“ werden dann mit Hilfe eines Gammacounters gezählt. Die Konzentration des Analyten ist direkt proportional zur gebundenen Radioaktivität des Sandwich. Die Counts der Kalibratoren werden grafisch dargestellt und die Proben werden aus der erstellten Kalibratorkurve abgelesen.

## MITGELIEFERTE REAGENZIEN, STABILITÄT UND LAGERUNG

Kitgröße - 125 Tests. Der Kit und alle Komponenten sollten geöffnet oder ungeöffnet bei 2-8°C innerhalb des angegebenen Verfalldatums gelagert werden.

## IgE: Tracer

**1 Fläschchen REF # IEI1**  
26 ml <sup>125</sup>I-markierte anti-IgE (≤13μCi) in BSA-PBS-Puffer, nicht-immunes Tierserum und orangener Farbstoff. Enthält Natriumazid, (NaN<sub>3</sub>), 0,1% w/v. Gebrauchsfertig

## IgE: Festphase

**1 Fläschchen REF # IEA1**  
26 ml, mit anti-IgE Antikörper, die an magnetisierbare Polystyrolpartikel in BSA-PBS-Puffer gekoppelt sind. Enthält (NaN<sub>3</sub>), 0,1% w/v.

Vor Gebrauch vorsichtig mischen.

## Waschkonzentrat

**1 Fläschchen REF # HW1**  
10 ml einer 15-fach konzentrierten Waschlösung. Enthält (NaN<sub>3</sub>), 1,5% w/v. Vor Gebrauch zu verdünnen

## IgE: Kalibratoren

**7 Fläschchen REF # IES10**  
5,0 ml in Kalibrator 1 und 1,0 ml in Kalibrator 2-7, jeweils in Pferdeserum. Enthält (NaN<sub>3</sub>), 0,1% 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.

## 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 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

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 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 und entionisiertes Wasser
- \* Einwegplastikteströhrchen 12 x 75 mm
- \* Präzisionspipetten
- \* Multipipette
- \* Timer
- \* Vortexmischer
- \* Wasserbad (37°C ± 2°C)
- \* Magnetack oder Kühlzentrifuge mit Leistung 1500 x g
- \* saugfähiges Papier
- \* Gammacounter

## HINWEISE ZUM VERFAHREN

Alle Reagentien und Proben auf Raumtemperatur (20-25°C) bringen und vor Gebrauch vorsichtig durch Umdrehen über Kopf mischen. Doppelbestimmung sind empfehlenswert.

## Keinen Magnetrührer zum Mischen der Festphasenreagenz verwenden.

## Doppelbestimmungen sind empfehlenswert.

Kontamination der Reagentien führt zu schlechten Ergebnissen. Bei jedem Test sollte eine Kalibratorkurve angelegt werden. Proben, bei denen Verdacht auf Konzentrationen oberhalb des Kalibratorhöchstwertes besteht, sollten vor dem Test mit Nullkalibrator verdünnt werden. Alle Testschritte sollten ohne Unterbrechung durchgeführt werden.

Die Reagentien sin aufeinander abgestimmt, daher sollten Reagentien unterschiedlicher Lotnummern nicht untereinander gemischt werden. Der Gammacounter und alle verwendeten Pipetten sind vor Gebrauch entsprechend zu kalibrieren.

## Waschen

Die Effizienz der Waschschrte ist unerlässlich für hohe Präzision. **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.

## TESTVERFAHREN

### Vorbereitung der Reagentien

#### Waschlösung

Waschkonzentrat 1 zu 15 mit entionisiertem Wasser verdünnen. Die Waschlösung kann bei Raumtemperatur (20-25°C) 6 Monate lang gelagert werden.

#### Kalibratoren

Zur Rekonstitution des lyophilisierten Kalibrators das auf jedem Fläschchenlabel angegebene Volumen entionisierten Wassers zugeben. Fläschchen ruhig stehen lassen bis zur vollständigen Lösung (mindestens 30 Minuten.) und dann durch vorsichtiges Umdrehen über Kopf mischen. Die exakten chargenabhängigen Konzentrationen sind auf einem separaten im Kit enthaltenen Blatt angegeben.

Nach Rekonstitution sollte man die Kalibratoren bei -20°C aufbewahren.

#### Protokoll

1. Teströhrchen zusammenstellen und entsprechend der Anzahl der erforderlichen Tests kennzeichnen, inkl. Totalaktivität (TA), Kalibratoren, Kontrollen und Proben (Doppelbestimmung).
2. 25 µl der Probe (Kalibrator, Kontrollproben) in die entsprechenden Teströhrchen pipettieren (Doppelbestimmung).
3. IgE-Festphase durch Vortexen und wiederholtes Umdrehen über Kopf des Flascheninhalts mischen bis kein Sediment mehr am Flaschenboden sichtbar ist. – die Reagenz nicht heftig schütteln.
4. 200 µl IgE Festphase in alle Röhrchen mit Ausnahme des TA pipettieren.

5. Röhrcchen vorsichtig mischen und dann 30 Minuten bei 37°C inkubieren
6. 200 µl IgE Tracer (gelb) in alle Röhrcchen pipettieren. TA-Röhrcchen zur Seite stellen.
7. Röhrcchen vorsichtig vortexen und dann 30 Minuten bei 37°C inkubieren.
8. Zur Trennung des Sandwichs von ungebundenem Antikörper erhält man entweder mit Hilfe einer Magnettrennung oder durch Zentrifugieren
- c) Rack von seiner magnetischen Bodenplatte abnehmen. Röhrcchen durch Zugabe von 500 µl Waschlösung in alle Röhrcchen waschen. Vortexen, auf magnetischer Bodenplatte sedimentieren, dekantieren und wie oben aufgeführt auf saugfähigem Papier aufklopfen.

#### ODER

##### B. Zentrifugieren

- a) Alle Röhrcchen 5 Minuten bei 1500 x g in einer Kühlzentrifuge (4°C) zentrifugieren. Überstand dekantieren und die Röhrcchen 2 Minuten auf saugfähigem Papier abfließen lassen.
- b) Röhrcchen durch Zugabe von 500 µl Waschlösung in alle Röhrcchen waschen. Vortexen, zentrifugieren, dekantieren und wie oben auf saugfähigem Papier aufklopfen.
9. Alle Röhrcchen 1 Minute mit Hilfe des Gammacounters zählen. Cpm jedes Röhrcchens notieren.
10. Ergebnisse berechnen.
- A. **Magnettrennung**
- a) Röhrcchen in das Magnettrennrack geben und sicherstellen, dass alle Röhrcchen Kontakt mit der magnetischen Bodenplatte haben. 5 Minuten stehen lassen. Eine höhere Präzision erzielt man durch Verlängerung der Sedimentationszeit auf 10 Minuten.
- b) Nach der Trennung das Rack nicht von der magnetischen Bodenplatte abnehmen. Überstand dekantieren und durch umgedrehtes Halten der magnetischen Bodenplatte die Röhrcchen 2 Minuten lang auf saugfähigem Papier aufklopfen lassen.

#### BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Die Berechnung der Ergebnisse ist manuell möglich, wenn keine automatische Datenauswertung vorhanden ist.

- OD für Doppelbestimmung berechnen.
- Kalibratorkurve auf Semilog- oder Loglinearpapier nach folgender Methode auftragen:

##### Methode 1

Berechnung von %B/T benutzen:

$$\%B/T = \frac{\text{cpm (Probe)}}{\text{cpm TA}} \times 100$$

%B/T in die Y-Achse gegen die entsprechenden Kalibratorkonzentrationen auftragen.

##### Methode 2:

cpm in die Y-Achse gegen die entsprechenden Kalibratorkonzentrationen auftragen.

- Probenwerte direkt aus der Kalibratorkurve in kIU/l ablesen.

#### BERECHNUNGSBEISPIEL

ID	OD	%B/T	IgE kIU/l 2. IRP
TA	118080		
0	126	0,11	
2	520	0,44	
5	1057	0,90	
20	3521	2,98	
100	12944	10,96	
500	28952	24,52	
1500	35566	30,12	
Probe 1	10002	8,47	69,9
Probe 2	16141	13,67	139,2

#### KALIBRATION

Die mitgelieferten Kalibratoren dieses Kits sind in kIU/l angegeben und standardisiert, gemäß 2. Internationale Referenz Präparat für IgE 75/502.

#### 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 vor der Testdurchführung auf Radioaktivität geprüft werden und solange gelagert werden bis die Radioaktivität abgeklungen ist oder es sollte eine neue Probe angefordert werden.

#### 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 Gesunder und dient nur als Beispiel:

Die Gesamt-IgE-Konzentrationen wurden mit Hilfe des Bioclone TOTAL-IgE IRMA KIT im Serum von 45 Blutspendern des Roten Kreuzes ermittelt, bei denen keine Krankengeschichte für Allergien vorlag.

Geometrischer MW 32 kIU/l + 1SD = 105 kIU/l

95% lagen unter 220 kIU/l

#### TESTCHARAKTERISTIKA

##### Intra-Assay Präzision

Probe	n	MW. ± 2SD (kIU/l)	%CV
A	20	36,65 ± 0,73	2,2
B	20	173,60 ± 4,23	2,4
C	20	377,00 ± 11,54	3,1

##### Inter-Assay Präzision

Probe	n *	MW. ± 2SD (kIU/l)	%CV
A	13	27,9 ± 1,02	3,7
B	13	323,0 ± 19,20	5,9

\* Doppelbestimmung

##### Spezifität

Analyt	Konzentration	Scheinbare IgE
	Getestet	Ergebnis (kIU/l)
IgG	3,75 mg/ml	nicht nachweisbar
IgA	0,29 mg/ml	nicht nachweisbar
IgM	0,39 mg/ml	nicht nachweisbar

##### Richtigkeit-Wiederfindung

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

In 12,5 µl Probe X wurden jeweils 12,5 µl jedes Kalibrators hinzugefügt.

Probe	IgE (kIU/l)		Wiederfindung %
	Gemessen	Erwartet	
x (25 µl)	287,4		
x (12,5 µl) + 12,5 µl	0	139,9	143,7
	2	145,7	144,7
	5	147,9	146,2
	20	150,2	153,7
	100	201,7	193,7
	500	389,3	393,7
	1500	790,8	893,7

##### Richtigkeit-Verdünnung

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

Probe	IgE (kIU/l)		% Wiederfindung
	Gemessen	Erwartet	
Net	448,8		
1/2	217,7	224,4	97
1/4	103,9	112,2	93
1/8	52,1	56,1	93
1/16	27,0	28,1	99

##### High-Dose Hook Effekt

Aufgrund des testcharakteristischen High-Dose-Hook-Effekts können Proben, die größer als 11.000 kIU/l sind, fälschlicherweise Ergebnisse liefern, die niedriger als die des höchsten Kalibrators des Kits sind. Diese Proben sollten mit Nullkalibrator verdünnt und neu getestet werden.

##### Sensitivität

Charakteristischerweise liegt die Sensitivität bei <0,32 kIU/l. Die Nachweisgrenze dieses Assays wird als die Analytkonzentration definiert, die dem OD von 10 Bestimmungen des Nullkalibrators minus 2 Standardabweichungen in drei verschiedenen Assays entspricht.

##### Interferenz

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

#### BESTELLINFORMATION

Der IgE IRMA 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

TEILENUMMER: KBIEG Ausg.6 Revision Datum: 1 Juni 2006