

Product information

Information about other products is available at: www.demeditec.com



User's Manual

PMSG ELISA

VET

REF

DE1298



96

Contents / Inhaltsverzeichnis / Contenuti / Contenido / Contenu

1	INTRODUCTION.....	3
2	PRINCIPLE OF THE TEST	3
3	WARNINGS AND PRECAUTIONS	4
4	REAGENTS.....	5
5	SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION.....	6
6	ASSAY PROCEDURE	6
7	EXPECTED VALUES.....	8
8	QUALITY CONTROL	8
9	PERFORMANCE CHARACTERISTICS.....	9
10	LIMITATIONS OF USE	10
11	LEGAL ASPECTS	11
1	EINLEITUNG.....	12
2	TESTPRINZIP	12
3	VORSICHTSMAßNAHMEN	12
4	BESTANDTEILE DES KITS	13
5	PROBENVORBEREITUNG.....	14
6	TESTDURCHFÜHRUNG	14
7	ERWARTETE WERTE.....	16
8	QUALITÄTS-KONTROLLE.....	16
9	ASSAY CHARACTERISTIKA.....	16
10	GRENZEN DES TESTS	16
11	RECHTLICHE GRUNDLAGEN	17
	SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ELISAS	18

1 INTRODUCTION

1.1 Intended Use

The **DEMEDIATEC PMSG ELISA** is an enzyme immunoassay for the quantitative *in vitro* measurement of Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG) in equine serum and plasma

1.2 Summary and Explanation

PMSG or equine chorionic gonadotropin is secreted by the endometrial cups of the pregnant mares uterus. The hormone is found in the blood of the pregnant mare between the 40th and 120th days of gestation, reaching a peak at approximately the 60th day.

Measurement of PMSG provides a specific test for pregnancy since the hormone is only found in the pregnant mare. After 150 days of gestation, hormone levels are no longer detectable.

The PMSG diagnostic test as a means of pregnancy testing is a suitable and convenient method to confirm earlier ultrasound scanning techniques and allows the practitioner to obtain this information quickly and economically in the laboratory.

2 PRINCIPLE OF THE TEST

The DEMEDIATEC PMSG ELISA Kit is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) based on the sandwich principle.

The microtiter wells are coated with a monoclonal antibody directed towards a unique antigenic site of the PMSG molecule. An aliquot of sample containing endogenous PMSG is incubated in the coated well. After washing a second incubation follows with enzyme conjugate, which is an anti-PMSG antibody conjugated with horseradish peroxidase. After incubation the unbound conjugate is washed off.

The amount of bound peroxidase is proportional to the concentration of PMSG in the sample.

Having added the substrate solution, the intensity of colour developed is proportional to the concentration of PMSG in the sample.

3 WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. This kit is for in vitro use only.
2. All blood components and biological materials should be handled as potentially hazardous in use and for disposal. Follow universal precautions as established by the Centers for Disease Control and Prevention and by the Occupational Safety and Health Administration when handling and disposing of infectious agents.
3. Before starting the assay, read the instructions completely and carefully. Use the valid version of the package insert provided with the kit. Be sure that everything is understood.
4. The microplate contains snap-off strips. Unused wells must be stored at 2 °C to 8 °C in the sealed foil pouch and used in the frame provided.
5. Pipetting of samples and reagents must be done as quickly as possible and in the same sequence for each step.
6. Use reservoirs only for single reagents. This especially applies to the substrate reservoirs. Using a reservoir for dispensing a substrate solution that had previously been used for the conjugate solution may turn solution colored. Do not pour reagents back into vials as reagent contamination may occur.
7. Mix the contents of the microplate wells thoroughly to ensure good test results. Do not reuse microwells.
8. Do not let wells dry during assay; add reagents immediately after completing the rinsing steps.
9. Allow the reagents to reach room temperature (21-26 °C) before starting the test. Temperature will affect the absorbance readings of the assay. However, values for the patient samples will not be affected.
10. Never pipet by mouth and avoid contact of reagents and specimens with skin and mucous membranes.
11. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.
12. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents or specimens may give false results.
13. Handling should be done in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guideline or regulation.
14. Do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
15. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microtiterplate readers.
16. Do not mix or use components from kits with different lot numbers. It is advised not to exchange wells of different plates even of the same lot. The kits may have been shipped or stored under different conditions and the binding characteristics of the plates may result slightly different.
17. Avoid contact with *Stop Solution* containing 1 N acidic solution. It may cause skin irritation and burns.
18. Some reagents contain Proclin 300, BND and/or MIT as preservatives. In case of contact with eyes or skin, flush immediately with water.
19. TMB substrate has an irritant effect on skin and mucosa. In case of possible contact, wash eyes with an abundant volume of water and skin with soap and abundant water. Wash contaminated objects before reusing them. If inhaled, take the person to open air.
20. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guideline or regulation.
21. For information on hazardous substances included in the kit please refer to Material Safety Data Sheets. Material Safety Data Sheets for this product are available upon request directly from DEMEDITEC.

4 REAGENTS

4.1 Reagents provided

1. **Microtiterwells**, 12x8 (break apart) strips, 96 wells;
Wells coated with anti-PMSG antibody (monoclonal).
2. **Zero Standard**, 1 vial, 10 mL, ready to use;
also used for sample dilution.
Contains non-mercury preservative.
3. **Standard (Standard 1-5)**, 5 vials, 1 mL, ready to use;
Concentrations: for exact values please refer to vial label or QC-Datasheet.
Conversion factor: 1 IU ~ 100 ng (1 ng ~ 10 mIU)
Contain non-mercury preservative.
4. **Enzyme Conjugate**, 1 vial, 11 mL, ready to use,
Anti-PMSG antibody conjugated to horseradish peroxidase;
Contains non-mercury preservative.
5. **Substrate Solution**, 1 vial, 14 mL, ready to use,
Tetramethylbenzidine (TMB).
6. **Stop Solution**, 1 vial, 14 mL, ready to use,
contains 1 N acidic solution,
Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.

4.2 Materials required but not provided

- A microtiter plate calibrated reader (450 ± 10 nm)
- Calibrated variable precision micropipettes.
- Absorbent paper.
- Distilled or deionized water
- Timer
- Semi logarithmic graph paper or software for data reduction

4.3 Storage Conditions

When stored at 2 °C to 8 °C unopened reagents will retain reactivity until expiration date. Do not use reagents beyond this date.

Opened reagents must be stored at 2 °C to 8 °C. Microtiter wells must be stored at 2 °C to 8 °C. Once the foil bag has been opened, care should be taken to close it tightly again.

Opened kits retain activity for six weeks if stored as described above.

4.4 Reagent Preparation

Bring all reagents and required number of strips to room temperature prior to use.

4.5 Disposal of the Kit

The disposal of the kit must be made according to the national regulations. Special information for this product is given in the Material Safety Data Sheet.

4.6 Damaged Test Kits

In case of any severe damage to the test kit or components, DEMEDITEC has to be informed in writing, at the latest, one week after receiving the kit. Severely damaged single components should not be used for a test run. They have to be stored until a final solution has been found. After this, they should be disposed according to the official regulations.

5 SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum or plasma can be used in this assay.

Do not use haemolytic, icteric or lipaemic specimens.

Please note: Samples containing sodium azide should not be used in the assay.

5.1 Specimen Storage and Preparation

If samples cannot be assayed immediately, they should be frozen at -20 °C (up to two years). Thawed samples should be inverted several times prior to testing.

5.2 Specimen Dilution

If in an initial assay, a specimen is found to contain more than the highest standard, the specimens can be diluted with *Zero Standard* and reassayed as described in Assay Procedure.

For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

For **pregnant mares** a sample dilution of (at least) 1:10 is recommended.

Cross reactivity with LH and FSH is eliminated using serum or plasma samples at a high dilution (1:100) with *Zero Standard*.

Example:

a) dilution 1:10: 10 µL Serum + 90 µL *Zero Standard* (mix thoroughly)

b) dilution 1:100: 10 µL dilution a) 1:10 + 90 µL *Zero Standard* (mix thoroughly).

6 ASSAY PROCEDURE

6.1 General Remarks

- All reagents and specimens must be allowed to come to room temperature before use. All reagents must be mixed without foaming.
- Once the test has been started, all steps should be completed without interruption.
- Use new disposal plastic pipette tips for each standard, control or sample in order to avoid cross contamination.
- Absorbance is a function of the incubation time and temperature. Before starting the assay, it is recommended that all reagents are ready, caps removed, all needed wells secured in holder, etc. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step without interruption.
- As a general rule the enzymatic reaction is linearly proportional to time and temperature.
- The size of the assay run should be limited. Pipetting of all standards, samples and controls should be completed within 6 minutes

6.2 Test Procedure

Each run must include a standard curve.

1. Secure the desired number of Microtiter wells in the frame holder.
2. Dispense **100 µL** of each **Standard, control** and **samples** with new disposable tips into appropriate wells.
3. Incubate for **60 minutes** at room temperature.
4. Briskly shake out the contents of the wells.
Rinse the wells **3 times** with tap or distilled water (300 µL per well). Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.

Important note:

The sensitivity and precision of this assay is markedly influenced by the correct performance of the washing procedure!

5. Dispense **100 µL Enzyme Conjugate** into each well.
6. Incubate for **60 minutes** at room temperature.
7. Briskly shake out the contents of the wells.
Rinse the wells **5 times** with tap or distilled water (300 µL per well). Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.
8. Add **100 µL of Substrate Solution** to each well.
9. Incubate for **30 minutes** at room temperature.
10. Stop the enzymatic reaction by adding **50 µL of Stop Solution** to each well.
11. Determine the absorbance (OD) of each well at **450 ± 10 nm** with a microtiter plate reader.
It is recommended that the wells be read **within 30 minutes** after adding the *Stop Solution*.

6.3 Calculation of Results

1. Calculate the average absorbance values for each set of standards, controls and patient samples.
2. Using semi-logarithmic graph paper, construct a standard curve by plotting the mean absorbance obtained from each standard against its concentration with absorbance value on the vertical (Y) axis and concentration on the horizontal (X) axis.
3. Using the mean absorbance value for each sample determine the corresponding concentration from the standard curve.
4. Automated method: The results in the IFU have been calculated automatically using a 4 PL (4 Parameter Logistics) curve fit. 4 Parameter Logistics is the preferred method. Other data reduction functions may give slightly different results.
5. The concentration of the samples can be read directly from this standard curve. Samples with concentrations higher than that of the highest standard have to be further diluted or reported as such. For the calculation of the concentrations the dilution factor has to be taken into account.

7 EXPECTED VALUES

It is strongly recommended that each laboratory should determine its own values.

Please refer to chapter 1.2 "Summary and Explanation"

8 QUALITY CONTROL

Good laboratory practice requires that controls be run with each calibration curve. A statistically significant number of controls should be assayed to establish mean values and acceptable ranges to assure proper performance.

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results. Use controls at both normal and pathological levels.

The controls and the corresponding results of the QC-Laboratory are stated in the QC certificate added to the kit. The values and ranges stated on the QC sheet always refer to the current kit lot and should be used for direct comparison of the results.

Employ appropriate statistical methods for analysing control values and trends. If the results of the assay do not fit to the established acceptable ranges of control materials patient results should be considered invalid.

In this case, please check the following technical areas: Pipetting and timing devices; photometer, expiration dates of reagents, storage and incubation conditions, aspiration and washing methods.

After checking the above mentioned items without finding any error contact your distributor or DEMEDITEC directly.

9 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

9.1 Specificity of Antibodies (Cross Reactivity)

The following equine hormones and hCG were tested for cross reactivity of the assay:

Hormone tested	Concentration	Produced colour Intensity Equivalent to PMSG IU/mL
PMSG α (Purity: > 98 % SDS PAGE)	10 μ g/mL	0,185
	1 μ g/mL	0,021
PMSG β (Purity: > 98 % SDS PAGE)	10 μ g/mL	0,440
	1 μ g/mL	0,046
FSH (Immunological potency: > 90 x the NIH Int. Standard FSH-P-1)	50 ng/mL	0,920
	5 ng/mL	0,087
LH (Potency: RRA: 9500 IU/mg of the 2d I.S: Serum Gonadotropin)	50 ng/mL	0,505
	5 ng/mL	0,049
hCG	40 IU/mL	0

9.2 Reproducibility

9.2.1 Intra Assay

The within assay variability is shown below:

Sample	n	Mean \pm SD (mIU/mL)	CV (%)
1	10	79 \pm 5,9	7,5
2	10	312 \pm 10,0	3,2
3	10	612 \pm 50,2	8,2

9.2.2 Inter Assay

The between assay variability is shown below:

Sample	n	Mean \pm SD (mIU/mL)	CV (%)
1	10	81 \pm 6,9	8,5
2	10	308 \pm 22,5	7,3
3	10	605 \pm 59,3	9,8

9.3 Recovery

Samples have been spiked by adding PMSG solutions with known concentrations

Sample	Endogenous PMSG mIU/ml	Added PMSG (mIU/mL)	Recovery %
A	79	300	101
		150	105
		75	93
B	312	300	108
		150	112
		75	103

9.4 Linearity

Two serum pools were diluted in Zero Standard.

Sample	Dilution factor	Measured conc. (mIU/mL)	Recovery %
B	Undiluted	312	
	1:2	148	95
	1:4	82	105
	1:8	41	105
C	Undiluted	720	
	1:2	356	99
	1:4	182	101
	1:8	82	91
	1:16	43	96

10 LIMITATIONS OF USE

Reliable and reproducible results will be obtained when the assay procedure is performed with a complete understanding of the package insert instruction and with adherence to good laboratory practice. Any improper handling of samples or modification of this test might influence the results.

10.1 Interfering Substances

Cross reactivity with LH and FSH is eliminated using serum or plasma samples at a high dilution (1:100) with *Zero Standard*. (See 5.2 Specimen Dilution)

10.2 High-Dose-Hook Effect

No hook effect was observed in this test

11 LEGAL ASPECTS

11.1 Reliability of Results

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable national standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications. In case of any doubt or concern please contact DEMEDITEC.

11.2 Therapeutic Consequences

Therapeutic consequences should never be based on laboratory results alone even if all test results are in agreement with the items as stated under point 11.1. Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of a specimen.

Only in cases where the laboratory results are in acceptable agreement with the overall clinical picture of the specimen should therapeutic consequences be derived.

The test result itself should never be the sole determinant for deriving any therapeutic consequences.

11.3 Liability

Any modification of the test kit and/or exchange or mixture of any components of different lots from one test kit to another could negatively affect the intended results and validity of the overall test. Such modification and/or exchanges invalidate any claim for replacement.

Claims submitted due to customer misinterpretation of laboratory results subject to point 11.2. are also invalid. Regardless, in the event of any claim, the manufacturer's liability is not to exceed the value of the test kit. Any damage caused to the test kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer.

1 EINLEITUNG

Der **DEMEDITEC PMSG ELISA** wird zur quantitativen in-vitro Bestimmung von PMSG in Serum und Plasma von Pferden eingesetzt.

Bei schwangeren Stuten wird PMSG von Endometrial-Cups im Uterus sekretiert.

Im Blut einer schwangeren Stute wird das Hormon vom 40. bis zum 120. Tag der Schwangerschaft gefunden und erreicht sein Maximum etwa am 60. Tag.

Die Messung von PMSG ist ein spezifischer Schwangerschaftstest, da das Hormon ausschließlich bei trächtigen Stuten gefunden wird.

Nach dem 150. Tag der Schwangerschaft ist das Hormon nicht länger messbar.

Der PMSG ELISA ist ein geeigneter Test um frühzeitige Ultraschall-Untersuchungen zu bestätigen.

2 TESTPRINZIP

Der DEMEDITEC PMSG ELISA ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay, der auf der Sandwichtechnik basiert.

Die Wells der Mikrotiterplatten sind mit einem monoklonalen Antikörper beschichtet, der gegen eine definierte Antikörper-Bindungsstelle des PMSG -Moleküls gerichtet ist.

Die Proben werden in die beschichteten Wells gegeben und inkubiert. Nach einem Waschschrift folgt eine zweite Inkubation mit Enzymkonjugat. Das Konjugat enthält einen anti- PMSG -Antikörper, der mit Meerrettichperoxidase konjugiert ist. Es wird ein Sandwichkomplex gebildet.

Das nicht gebundene Konjugat wird durch Waschen der Wells entfernt. Anschließend wird die Substratlösung zugegeben und die Farbentwicklung nach einer definierten Zeit gestoppt. Die Intensität der gebildeten Farbe ist proportional der PMSG -Konzentration in der Probe. Die Extinktion wird bei 450 nm mit einem Mikrotiterplattenleser gemessen.

3 VORSICHTSMAßNAHMEN

- Dieser Kit ist nur zum in vitro Gebrauch geeignet. .
- Nur die gültige, im Testkit enthaltene, Arbeitsanleitung verwenden.
- Informationen zu im Kit enthaltenen gefährlichen Substanzen entnehmen Sie bitte dem Materialsicherheitsdatenblatt.
- Der Kontakt mit der *Stop Solution* sollte vermieden werden, da sie 1 N saure Lösung enthält. Saure Lösung kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.
- Nicht mit dem Mund pipettieren und den Kontakt von Kitbestandteilen und Proben mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
- In den Bereichen, in denen Proben oder Kitbestandteile verwendet werden, nicht rauchen, essen oder Kosmetika verwenden.
- Beim Umgang mit Proben oder Reagenzien Einweg-Latexhandschuhe tragen. Die Verunreinigung von Reagenzien oder Proben mit Mikroben kann zu falschen Ergebnissen führen.
- Der Gebrauch sollte gemäß der Vorschriften einer entsprechenden nationalen Gefahrenstoff-Sicherheitsrichtlinie erfolgen.
- Reagenzien nicht nach dem auf dem Kit-Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Alle im Kit-Protokoll angegebenen Mengen müssen genau eingehalten werden. Optimale Ergebnisse können nur durch Verwendung kalibrierter Pipetten und Mikrotiterplatten-Lesegeräte erreicht werden.
- Komponenten von Kits mit unterschiedlichen Lotnummern nicht untereinander vertauschen. Es wird empfohlen, keine Wells von verschiedenen Platten zu verwenden, auch nicht, wenn es sich um das gleiche Lot handelt. Die Kits können unter anderen Bedingungen gelagert oder versendet worden sein, so dass die Bindungscharakteristik der Platten leicht unterschiedlich ausfällt.
- Chemikalien und zubereitete oder bereits benutzte Reagenzien müssen gemäß den nationalen Gefahrenstoffvorschriften wie gefährlicher Abfall behandelt werden.
- Materialsicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage direkt von der Firma Demeditec Diagnostics GmbH erhältlich. Die Materialsicherheitsdatenblätter entsprechen den Verordnungen der EU-Richtlinie 91/155 EC.

4 BESTANDTEILE DES KITS

4.1 Kitinhalt

1. **Microtiterwells**, 96 Wells, 12x8 Wells (einzeln brechbar);
Mit anti- PMSG-Antikörper (monoklonal) beschichtet.
2. **Zero Standard**, 1 Fläschchen, 10 mL, gebrauchsfertig;
wird auch zur Probenverdünnung verwendet.
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
3. **Standard (Standard 1-5)**, 5 Fläschchen, je 1 mL, gebrauchsfertig;
Genaue Konzentrationen entnehmen Sie bitte dem Fläschchenetikett oder dem QC Datenblatt
Umrechnungsfaktor: 1 IU ~ 100 ng (1 ng ~ 10 mIU)
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
4. **Enzyme Conjugate** (Enzymkonjugat), 1 Fläschchen, 11 mL, gebrauchsfertig;
Anti- PMSG -Antikörper mit Meerrettichperoxidase konjugiert.
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
5. **Substrate Solution** (Substratlösung), 1 Fläschchen, 14 mL, gebrauchsfertig;
Substratlösung TMB.
6. **Stop Solution** (Stopplösung), 1 Fläschchen, 14 mL, gebrauchsfertig;
enthält 1 N saure Lösung,
Kontakt mit der Stopplösung vermeiden! Kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.

4.2 Erforderliche aber nicht enthaltene Geräte und Materialien

- Kalibriertes Mikrotiterplattenlesegerät mit 450 ± 10 nm Filter),
- Kalibrierte variable Präzisions-Mikropipette
- Saugfähiges Papier
- Aqua dest.

4.3 Lagerung und Haltbarkeit des Kits

Die ungeöffneten Reagenzien behalten bei Lagerung um 2 °C bis 8 °C ihre Reaktivität bis zum Verfallsdatum. Nach dem Verfallsdatum die Reagenzien nicht mehr verwenden.

Nach dem Öffnen sollten alle Reagenzien bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.

Die Mikrotiterwells sollten bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Der einmal geöffnete Folienbeutel sollte stets sehr sorgfältig wieder verschlossen werden. Unter den beschriebenen Lagerbedingungen behalten geöffnete Kits 6 Wochen ihre Reaktivität.

4.4 Vorbereitung der Reagenzien

Alle Reagenzien sowie die benötigte Anzahl von Wells sollen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht werden.

4.5 Entsorgung des Kits

Die Entsorgung des Kits muss gemäß den nationalen gesetzlichen Vorschriften erfolgen. Spezielle Informationen für dieses Produkt finden Sie im Material Sicherheitsdatenblatt, Kapitel 13.

4.6 Beschädigte Testkits

Im Falle einer starken Beschädigung des Testkits oder der Komponenten muss die Firma DEMEDITEC in schriftlicher Form spätestens eine Woche nach Erhalt des Kits informiert werden. Stark beschädigte Einzelkomponenten sollten nicht für den Testlauf verwendet werden. Sie müssen gelagert werden bis eine endgültige Lösung gefunden wurde. Danach sollten Sie gemäß den offiziellen Richtlinien entsorgt werden.

5 PROBENVORBEREITUNG

Serum oder Plasma kann in diesem Test als Probenmaterial eingesetzt werden.
Lipämische, ikterische und/oder stark hämolysierte Proben sollten nicht verwendet werden.
Achtung: Proben, die Natriumazid enthalten, sollten nicht verwendet werden.

5.1 Probenaufbewahrung

Falls die Proben nicht sofort verarbeitet werden können, sollten die Proben eingefroren bei -20°C (bis zu 2 Jahren) bis zum Testbeginn gelagert werden. Nur einmal einfrieren. Aufgetaute Proben sollten vor Testbeginn vorsichtig durchmischt werden, ohne Schaumbildung.

5.2 Probenverdünnung

Wenn in einem ersten Testdurchlauf bei einer Probe eine Konzentration höher als der höchste Standard gefunden wird, kann diese Probe mit *Zero Standard* weiter verdünnt und nochmals bestimmt werden.

Die Verdünnung muss jedoch bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden.

Bei der Verwendung von **Proben schwangerer Stuten** wird die Probenverdünnung von mindestens 1:10 empfohlen

Eine Kreuzreaktivität mit LH und FSH kann durch eine hohe Verdünnung der Serum- oder Plasmaproben (1:100) mit *Zero Standard* ausgeschlossen werden.

Beispiel:

- a) Verdünnung 1:10: 10 μL Serum + 90 μL *Zero Standard* (gründlich mischen)
- b) Verdünnung 1:100: 10 μL Verdünnung a) 1:10 + 90 μL *Zero Standard* (gründlich mischen).

6 TESTDURCHFÜHRUNG

6.1 Allgemeine Hinweise

- Alle Reagenzien und Proben müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht und gut durchmischt werden. Dabei sollte Schaumbildung vermieden werden.
- Wenn die Testdurchführung einmal begonnen wurde, muss sie ohne Unterbrechung zu Ende geführt werden.
- Für jeden Standard, jede Kontrolle oder Probe eine neue Plastikspitze verwenden, um Verschleppungen zu vermeiden.
- Die Optische Dichte ist abhängig von Inkubationszeit und Temperatur. Deshalb ist es notwendig, vor Beginn der Testdurchführung alle Reagenzien in einen arbeitsbereiten Zustand zu bringen, die Deckel der Fläschchen zu öffnen, alle benötigten Wells in den Halter zu setzen. Nur eine solche Vorbereitung garantiert gleiche Zeiten für jeden Pipettiervorgang ohne Pausen.
- Als generelle Regel gilt, dass die enzymatische Reaktion linear proportional zu Zeit und Temperatur ist.
- Bei der Größe des Testansatzes sollte darauf geachtet werden, dass Kontroll- und Patientenproben innerhalb von 6 Minuten pipettiert werden.

6.2 Testdurchführung

Jeder Lauf muss eine Standardkurve beinhalten.

1. Die benötigte Anzahl Wells in der Halterung befestigen.
2. **Je 100 µL Standard, Kontrolle und Probe mit neuen Plastikspitzen** in die entsprechenden Wells geben.
3. **60 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
4. Den Inhalt der Wells kräftig ausschütteln. Wells **3-mal** mit Leitungswasser oder destilliertem Wasser (300 µL) waschen. Verbleibende Flüssigkeit durch Ausklopfen der Wells auf saugfähigem Papier entfernen.
Achtung: Die Sensitivität und Präzision dieses Assays wird erheblich beeinflusst von der korrekten Durchführung des Waschschrittes!
5. **100 µL Enzyme Conjugate** in jedes Well geben.
6. **60 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
7. Den Inhalt der Wells kräftig ausschütteln. Wells **5-mal** mit Leitungswasser oder destilliertem Wasser (300 µL) waschen. Verbleibende Flüssigkeit durch Ausklopfen der Wells auf saugfähigem Papier entfernen.
8. **100 µL Substrate Solution** in jedes Well geben.
9. **30 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
10. Die enzymatische Reaktion durch Zugabe von **50 µL Stop Solution** in jedes Well abstoppen.
11. Die Optische Dichte bei **450±10 nm** mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät innerhalb von **30 Minuten** nach Zugabe der **Stop Solution** bestimmen.

6.3 Ergebnisermittlung

1. Die durchschnittlichen Werte der Optischen Dichte (OD) für jedes Set von Standards, Kontrollen und Proben bestimmen.
2. Eine Standardkurve ermitteln durch Auftragen der mittleren Optischen Dichte jedes Standards gegen die Konzentration, wobei der OD-Wert auf der vertikalen (Y) Achse und die Konzentration auf der horizontalen (X) Achse eingetragen wird.
3. Unter Verwendung der mittleren OD wird für jede Probe die entsprechende Konzentration aus der Standardkurve ermittelt.
4. Automatische Methode: Die in der Arbeitsanleitung ermittelten Werte wurden automatisch mit Hilfe der 4 Parameter Gleichung (4PL, 4 Parameter Logistics, 4 Parameter Rodbard) bestimmt. Andere Auswertungsfunktionen können leicht abweichende Werte ergeben.
5. Die Konzentration der Proben kann direkt von der Standardkurve abgelesen werden. Proben, die eine höhere Konzentration als die des höchsten Standards enthalten, müssen verdünnt werden. Dieser Verdünnungsfaktor muss bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden.

7 ERWARTETE WERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Werte ermittelt.

Siehe auch Kapitel 1.

8 QUALITÄTS-KONTROLLE

Es wird empfohlen, die Kontrollproben gemäß den nationalen gesetzlichen Bestimmungen einzusetzen. Durch die Verwendung von Kontrollproben wird eine Tag-zu-Tag Überprüfung der Ergebnisse erzielt. Es sollten Kontrollen sowohl mit normalem als auch pathologischem Level eingesetzt werden.

Die Kontrollen mit den entsprechenden Ergebnissen des QC-Labors sind im QC-Zertifikat, das dem Kit beiliegt, aufgeführt. Die im QC-Blatt angegebenen Werte und Bereiche beziehen sich stets auf die aktuelle Kitcharge und sollten zum direkten Vergleich der Ergebnisse verwendet werden.

Es sollten geeignete statistische Methoden zur Analyse von Kontroll-Werten und Trends angewendet werden. Wenn die Ergebnisse des Assays nicht mit den angegebenen Akzeptanzbereichen des Kontrollmaterials übereinstimmen, sollten die Patientenergebnisse als ungünstig eingestuft werden.

In diesem Fall überprüfen Sie bitte die folgenden Bereiche: Pipetten und Zeitnehmer, Photometer, Verfallsdatum der Reagenzien, Lagerungs- und Inkubationsbedingungen, Absaug- und Waschmethode. Sollten Sie nach Überprüfung der vorgenannten Bereiche keinen Fehler erkannt haben, setzen Sie sich bitte mit Ihrem Lieferanten oder direkt mit der Firma DEMEDITEC in Verbindung.

9 ASSAY CHARACTERISTIKA

9.1 Spezifität der Antikörper (Kreuzreaktivität)

Die Daten entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Arbeitsanleitung.

Die Daten zu:

9.2 Reproduzierbarkeit (Präzision)

9.3 Wiederfindung

9.4 Linearität

entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Arbeitsanleitung.

10 GRENZEN DES TESTS

Jede unsachgemäße Behandlung von Proben oder Modifikationen dieses Tests können die Ergebnisse beeinflussen.

10.1 Interferenzen

Eine Kreuzreaktivität mit LH und FSH kann durch eine hohe Verdünnung der Serum- oder Plasmaproben (1:100) mit Zero Standard ausgeschlossen werden. (Siehe 5.2 Probenverdünnung)

10.2 High-Dose-Hook Effekt

Ein Hook Effekt tritt nicht auf.

11 RECHTLICHE GRUNDLAGEN

11.1 Zuverlässigkeit der Ergebnisse

Der Test muss exakt gemäß der Testanleitung des Herstellers abgearbeitet werden. Darüber hinaus muss der Benutzer sich strikt an die Regeln der GLP (Good Laboratory Practice) oder andere eventuell anzuwendende Regeln oder nationale gesetzliche Vorgaben halten. Dies betrifft besonders den Gebrauch der Kontrollreagenzien. Es ist sehr wichtig, bei der Testdurchführung stets eine ausreichende Anzahl Kontrollen zur Überprüfung der Genauigkeit und Präzision mitlaufen zu lassen.

Die Testergebnisse sind nur gültig, wenn alle Kontrollen in den vorgegebenen Bereichen liegen, und wenn alle anderen Testparameter die vorgegebenen Spezifikationen für diesen Assay erfüllen. Wenn Sie bezüglich eines Ergebnisses Zweifel oder Bedenken haben, setzen Sie sich bitte mit der Firma DEMEDITEC in Verbindung.

11.2 Therapeutische Konsequenzen

Therapeutische Konsequenzen sollten keinesfalls nur aufgrund von Laborergebnissen erfolgen, selbst dann nicht, wenn alle Testergebnisse mit den in 11.1. genannten Voraussetzungen übereinstimmen. Jedes Laborergebnis ist nur ein Teil des klinischen Gesamtbildes.

Nur in Fällen, in denen die Laborergebnisse in akzeptabler Übereinstimmung mit dem allgemeinen klinischen Bild des Probanden stehen, sollten therapeutische Konsequenzen eingeleitet werden.











Das Testergebnis allein sollte niemals als alleinige Grundlage für die Einleitung therapeutischer Konsequenzen dienen.

11.3 Haftung

Jegliche Veränderungen des Testkits und/oder Austausch oder Vermischung von Komponenten unterschiedlicher Chargen von einem Testkit zu einem anderen, können die gewünschten Ergebnisse und die Gültigkeit des gesamten Tests negativ beeinflussen. Solche Veränderungen und/oder Austausch haben den Ausschluss jeglicher Ersatzansprüche zur Folge.

Reklamationen, die aufgrund von Falschinterpretation von Laborergebnissen durch den Kunden gemäß Punkt 11.2. erfolgen, sind ebenfalls abzuweisen. Im Falle jeglicher Reklamation ist die Haftung des Herstellers maximal auf den Wert des Testkits beschränkt. Jegliche Schäden, die während des Transports am Kit entstanden sind, unterliegen nicht der Haftung des Herstellers.

SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ELISAS

Symbol	English	Deutsch	Français	Español	Italiano
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las Instrucciones	Consultare le istruzioni per l'uso
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	Usage Diagnostic in vitro	Para uso Diagnóstico in vitro	Per uso Diagnostica in vitro
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Seulement dans le cadre de recherches	Sólo para uso en investigación	Solo a scopo di ricerca
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Référence	Número de catálogo	No. di Cat.
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	No. de lot	Número de lote	Lotto no
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Température de conservation	Temperatura de conservación	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeitsdatum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
<i>Distributed by</i>	Distributor	Vertreiber	Distributeur	Distribuidor	Distributore
<i>Content</i>	Content	Inhalt	Contenu	Contenido	Contenuto
<i>Volume/No.</i>	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Numéro	Volumen/Número	Volume/Quantità
<i>Microtiterwells</i>	Microtiterwells	Mikrotiterwells	Plaques de micro-titration	Placas multipocillo	Micropozzetti
<i>Antiserum</i>	Antiserum	Antiserum	Antisérum	Antisero	Antisiero
<i>Enzyme Conjugate</i>	Enzyme Conjugate	Enzymkonjugat	Conjugué enzymatique	Conjugado enzimático	Tracciante enzimatico
<i>Enzyme Complex</i>	Enzyme Complex	Enzymkomplex	Complexe enzymatique	Complex enzimático	Complesso enzimatico
<i>Substrate Solution</i>	Substrate Solution	Substratlösung	Solution substrat	Solución de sustrato	Soluzione di substrato
<i>Stop Solution</i>	Stop Solution	Stopplösung	Solution d'arrêt	Solución de parada	Soluzione d'arresto
<i>Zero Standard</i>	Zero Standard	Nullstandard	Zero Standard	Estándar cero	Standard zero
<i>Standard</i>	Standard	Standard	Standard	Estándar	Standard
<i>Control</i>	Control	Kontrolle	Contrôle	Control	Controllo
<i>Assay Buffer</i>	Assay Buffer	Assaypuffer	Tampon d'essai	Tampón de ensayo	Tampone del test
<i>Wash Solution</i>	Wash Solution	Waschlösung	Solution de lavage	Solución de lavado	Soluzione di lavaggio
<i>1N NaOH</i>	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH (idrossido di sodio 1N)
<i>1 N HCl</i>	1 N HCl	1 N HCl	1N HCl	1 N HCl	
<i>Sample Diluent</i>	Sample Diluent	Probenverdünnungsmedium	Solution pour dilution de l'échantillon	Solución para dilución de la muestra	Diluyente dei campioni
<i>Conjugate Diluent</i>	Conjugate Diluent	Konjugatverdünnungsmedium	Solution pour dilution du conjugué	Solución para dilución del conjugado	Diluyente del tracciante