

Product information

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



User's Manual

Progesterone free in Saliva ELISA

IVD



REF

DES6633



96 Wells

CONTENTS / INHALTSVERZEICHNIS

1	INTRODUCTION	3
2	PRINCIPLE.....	3
3	WARNINGS AND PRECAUTIONS.....	3
4	REAGENTS.....	3
5	SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION.....	5
6	ASSAY PROCEDURE.....	6
7	EXPECTED NORMAL VALUES.....	7
8	QUALITY CONTROL.....	7
9	PERFORMANCE CHARACTERISTICS.....	8
10	LIMITATIONS OF PROCEDURE.....	10
11	LEGAL ASPECTS.....	10
12	REFERENCES.....	10
1	EINLEITUNG.....	13
2	TESTPRINZIP.....	13
3	VORSICHTSMAßNAHMEN.....	13
4	BESTANDTEILE DES KITS.....	13
5	PROBENVORBEREITUNG.....	15
6	TESTDURCHFÜHRUNG.....	16
7	ERWARTETE WERTE.....	17
8	QUALITÄTSKONTROLLE.....	18
9	ASSAY CHARACTERISTIKA.....	18
10	GRENZEN DES TESTS.....	18
11	RECHTLICHE GRUNDLAGEN.....	19
12	REFERENZEN.....	19
	SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ELISA.....	20

1 INTRODUCTION

1.1 Intended Use

Enzyme immunoassay for the *in vitro diagnostic* quantitative measurement of active free progesterone in saliva. Measurements obtained by this device may be used in the diagnosis and treatment of disorders of the ovaries or placenta and as an aid to confirm that ovulation takes place.

1.2 Summary and explanation

Progesterone (4-pregnene-3, 20-dione) is a C21 steroid hormone containing a keto-group (at C-3) and a double bond between C-4 and C-5. Like other steroids, it is synthesized from cholesterol via a series of enzyme-mediated steps (1). Progesterone is a female sex hormone of primary importance in ovulation, fertility and menopause. It is particularly important in preparing the endometrium for the implantation of the blastocyte and in maintaining pregnancy (2). In the follicular phase of menstrual cycle progesterone is produced in low levels. It increases to the LH peak and then sharply rises to high levels. Next there is a sharp decline to low levels of follicular phase. In non-pregnant women progesterone is mainly secreted by the corpus luteum whereas in pregnancy the placenta becomes the major source (3,4). Minor sources for progesterone are the adrenal cortex for both sexes and the testes for males.

The determination of progesterone in saliva combines a highly sensitive technique and non-invasive collection and represents the concentration of the metabolic active free progesterone.

2 PRINCIPLE

The **DEMEDIATEC Progesterone free in Saliva ELISA** Kit is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), based on the principle of competitive binding. An unknown amount of free progesterone present in the sample and a defined amount of progesterone conjugated to horseradish peroxidase compete for the binding sites of rabbit polyclonal progesterone antiserum coated to the wells of a microplate. After one-hour incubation on a shaker the microplate is washed four times. After addition of the substrate solution the concentration of progesterone is inversely proportional to the optical density measured.

3 WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. This kit is for *in vitro* diagnostic use only. For professional use only.
2. 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.
3. 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.
4. Pipetting of samples and reagents must be done as quickly as possible and in the same sequence for each step.
5. 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.
6. Mix the contents of the microplate wells thoroughly to ensure good test results. Do not reuse microwells.
7. Do not let wells dry during assay; add reagents immediately after completing the rinsing steps.
8. 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.
9. Never pipet by mouth and avoid contact of reagents and specimens with skin and mucous membranes.
10. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.
11. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents or specimens may give false results.
12. Handling should be done in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guideline or regulation.
13. Do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.

14. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microtiterplate readers.
15. 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.
16. Avoid contact with Stop Solution. It may cause skin irritation and burns.
17. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guideline or regulation.
18. For information please refer to Material Safety Data Sheets. Safety Data Sheets for this product are available upon request directly from Demeditec Diagnostics GmbH.

4 REAGENTS

4.1 Reagents provided

1. **SORB MT Microtiterplate**, 12 x 8 (break apart) strips with 96 wells;
Wells coated with an anti-Progesterone antibody (rabbit polyclonal antibody).
2. **CAL 0 Calibrator 0**, 1 vial, 3.0 ml, ready to use
3. **CAL 1-6 Calibrator (Calibrator 1-6)**, 6 vials, 1 ml each, ready to use;
Concentrations: 10 – 30 – 100 – 300 – 1000 – 5000 pg/ml
Conversion: Progesterone (pg/ml) x 3.18 = pmol/l
4. **CONTROL 1-2 Control low / Control high**, 2 vials, 1.0 ml each, ready to use;
For control values and ranges please refer to QC-Datasheet.
5. **ENZ CONJ Enzyme Conjugate**, 1 vial, 7 ml, ready to use;
Progesterone conjugated to horseradish peroxidase
6. **SUB TMB Substrate Solution**, 1 vial, 22 ml, ready to use;
contains tetramethylbenzidine (TMB).
7. **STOP SOLN Stop Solution**, 1 vial, 7 ml, ready to use;
contains 2 N Hydrochloric Acid solution.
8. **WASH SOLN 10x Wash Solution**, 1 vial, 50 ml (10X concentrated);
see „Preparation of Reagents“.

Note: Additional Calibrator 0 for sample dilution is available upon request.

4.2 Materials required but not provided

- A microtiter plate reader capable for endpoint measurement at 450nm
- Calibrated variable precision micropipettes (50 µl, 100 µl, 200 µl).
- Microplate mixer operating more than 600 rpm
- Microcentrifuge
- Vortex mixer
- 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 be stable 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.

4.4 Reagent preparation

All reagents should be at room temperature before use.

Wash Solution:

Dilute 50 ml of 10X concentrated *Wash Solution* with 450 ml deionized water to a final volume of 500 ml.
The diluted Wash Solution is stable for at least 3 months at room temperature.

4.5 Disposal of the kits

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 of the test kit or components, DEMEDITEC have to be informed written, 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

Samples containing sodium azide should not be used in the assay. The saliva samples should be completely colorless. Even the slightest red color shows blood contamination resulting in falsely elevated concentration values. In case of visible blood contamination the patient should discard the sample, rinse the sampling device with water, wait for 10 minutes and take a new sample.

5.1 Specimen Collection

For the correct collection of saliva we are recommending to only use appropriate devices made from ultra-pure polypropylene. Do not use any PE devices or cotton based Salivettes for sampling. False readings will result. Glass tubes can be used as well, but in this case special attention is necessary for excluding any interference caused by the stopper. Please contact Demeditec Diagnostics for more details.

As food might contain significant amounts of steroid hormones samples preferably should be taken while fasting. If fasting should be a problem at least any food of animal origin (meat or dairy products) should be avoided prior to finalizing the collection. In the morning breakfast should be done only after finalizing the collection procedure. During the day the collection period should be timed just before an anticipated meal. As the steroid hormone secretion in saliva as well in serum shows an obvious dynamic secretion pattern throughout the day it is important to always collect 5 samples during a 2 hour period; this means every 30 minutes one sample. If possible the volume of each single sample should be a minimum of 0.5 ml (better 1 ml). Saliva flow may be stimulated by drinking water. This is allowed and even recommended before and during the collection period. Drinking of water is not allowed during the last 5 minutes before taking the single samples.

5.2 Specimen Storage and Preparation

Saliva samples in general are stable at ambient temperature for up to seven days. Therefore mailing of such samples by ordinary mail without cooling will not create any problem. Storage at 4°C can be done for a period of up to one month. Whenever possible samples should preferably be kept at a temperature of -20°C. Even repeated thawing and freezing is not a problem. Each sample has to be frozen, thawed, and centrifuged at least once anyhow in order to precipitate the mucins by centrifugation. Upon arrival of the samples at the lab the samples have to be kept frozen at least overnight. Next morning the samples are thawed and mixed carefully. The samples have to be centrifuged for 5 to 10 minutes. The clear colorless supernatant is easy to pipette. If the sample should show even a slightly red color it should be discarded. Otherwise the value most probably will be falsely elevated. Due to the episodic variations of the steroid secretion we highly recommend the strategy of multiple sampling. If such a set of multiple samples has to be tested the staff of lab (after at least one freezing, thawing, and centrifugation cycle) should mix aliquots of the 5 single samples and perform the determination using the mixture.

5.3 Specimen Dilution

Samples expected to contain progesterone concentrations higher than the highest calibrator (5000 pg/ml) should be diluted with the zero calibrator before assay. The additional dilution step has to be taken into account for the calculation of the result.

Example:

- a) Dilution 1:10: 10 µl saliva + 90 µl Calibrator 0 (mix thoroughly)
b) Dilution 1:100: 10 µl of dilution a) + 90 µl Calibrator 0 (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.
- Respect the incubation times as stated in this instructions for use.

6.2 Assay procedure

Each run must include a standard curve.

1. Prepare a sufficient number of microplate wells to accommodate calibrators, controls and patient samples.
2. Dispense **100 µl** of each **calibrator, control and sample** with new disposable tips into appropriate wells.
3. Dispense **50 µl** of **Enzyme Conjugate** into each well.
4. Incubate for **60 minutes** at room temperature on a Microplate mixer.

Important Note:

Optimal reaction in this assay is markedly dependent on shaking of the microplate!

5. Discard the content of the wells and rinse the wells **4 times** with diluted **Wash Solution** (300 µl per well). Remove as much Wash Solution as possible by beating the microplate on absorbent paper.
6. Add **200 µl** of **Substrate Solution** to each well.
7. Incubate without shaking for **30 minutes** in the dark.
8. Stop the reaction by adding **50 µl** of **Stop Solution** to each well.
9. Determine the absorbance of each well at 450 nm. It is recommended to read the wells within 15 minutes.

6.3 Calculation of results

1. Calculate the average absorbance values for each set of calibrators, 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 calibration curve.
4. Automated method: Computer programs using cubic spline, 4 PL (4 Parameter Logistics) or Logit-Log are recommended.
5. The concentration of the samples can be determined directly from this calibrator curve. Samples with concentrations higher than that of the highest calibrator have to be further diluted. For the calculation of the concentrations, this dilution factor has to be taken into account.

Conversion to SI units:

Progesterone (pg/ml) x 3.18 = pmol/l

6.3.1 Example of typical calibrator curve

Following data are intended for illustration only and should not be used to calculate results from another run.

Standard	Absorbance Units
Calibrator 0 (0 pg/ml)	2.326
Calibrator 1 (10 pg/ml)	2.103
Calibrator 2 (30 pg/ml)	1.912
Calibrator 3 (100 pg/ml)	1.548
Calibrator 4 (300 pg/ml)	1.257
Calibrator 5 (1000 pg/ml)	0.831
Calibrator 6 (5000 pg/ml)	0.455

7 EXPECTED NORMAL VALUES

In order to determine the normal range of salivary Progesterone, saliva samples from 101 adult male and 268 adult female apparently healthy subjects, ages 15 to 75 years, were collected in the morning and analyzed using the DEMEDITEC Progesterone free in Saliva ELISA kit. The following ranges are calculated with the results of this study.

	Age group	Salivary progesterone pg/ml (5 – 95% Percentile)
Women	15 - 55 yrs. Follicular phase n = 38	3.7 – 81.4 pg/ml
	15 - 55 yrs. Luteal phase n = 116	73.1 – 271.5 pg/ml
	> 55 yrs. Postmenopausal n = 114	5.5 – 98.9 pg/ml
Men Children (boys)	15 - 75 yrs. n = 101	8.6 – 107.0 pg/ml
	< 12 yrs. n = 7	14.5 – 43.4 pg/ml

Therapy should not be decided based on results alone. The results should be correlated to other clinical observations and diagnostic tests.

Furthermore, we recommend that each laboratory establish its own range for the population tested, because the values differ between age, new born, children, adolescents and adults.

8 QUALITY CONTROL

Good laboratory practice requires that controls should 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 national 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 at the QC sheet always refer to the current kit lot and should be used for direct comparison of the results.

It is also recommended to make use of national or international Quality Assessment programs in order to ensure the accuracy of the results.

Employ appropriate statistical methods for analyzing 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 Analytical Sensitivity

The lowest analytical detectable level of progesterone that can be distinguished from the Zero Calibrator is 5.0 pg/ml at the 2SD confidence limit.

9.2 Specificity (Cross Reactivity)

The following materials have been evaluated for cross reactivity. The percentage indicates cross reactivity at 50% displacement compared to Progesterone.

Steroid	% Cross reaction
Androstenedione	4.0
Androsterone	< 0.1
Cortisol	< 0.1
Cortison	< 0.1
Corticosterone	2.1
Danazol	< 0.1
11-Desoxycorticosterone	4.4
11-Desoxycortisol	< 0.1
Dexamethasone	< 0.1
5 α -Dihydrotestosteron	< 0.1
Estradiol	< 0.1
Estriol	< 0.1
Estrone	< 0.1
17 α -Hydroxyprogesterone	1.6
Prednisolon	< 0.1
Prednison	< 0.1
Pregnenolone	< 0.1
Testosterone	< 0.1

9.3 Assay dynamic range

The range of the assay is between 10 – 5000 pg/ml.

9.4 Reproducibility

9.4.1 Intra-Assay

The intra-assay variation was determined by 20 replicate measurements of 3 saliva samples within one run. The within-assay variability is shown below:

Mean (pg/ml)	129.58	865.37	2203.2
SD	7.72	55.75	212.28
CV (%)	5.96	6.44	9.63
n =	20	20	20

9.4.2 Inter-Assay

The inter-assay (between-run) variation was determined by duplicate measurements of 3 saliva samples over 10 days.

Mean (pg/ml)	111.33	1191.83	2285.5
SD	9.53	111.50	231.36
CV (%)	8.6	9.4	10.1
n =	10	10	10

9.5 Recovery

Using the Calibrator Matrix four spiking solutions were prepared (A = 2000 pg/ml, B = 5000 pg/ml, C = 10000 pg/ml, D = 20000 pg/ml). A 25 µl aliquot of each solution was spiked into 475 µl of different salivas, for a spiking ratio of 1 to 20, leaving the saliva matrix of the spiked samples relatively intact. All samples were then measured by Salivary Progesterone procedure. To calculate expected values 95% of the unspiked values were added to 5% of the spiking solution concentrations.

Sample	Measured (pg/ml)	Expected (pg/ml)	Recovery (%)	Sample	Measured (pg/ml)	Expected (pg/ml)	Recovery (%)
1	204	-	-	4	271	-	-
	302	294	102,7%		439	507	86,6%
	414	444	93,2%		593	757	78,3%
	558	694	80,4%		1089	1257	86,6%
2	50	-	-	5	954	-	-
	151	148	102,0%		1218	1156	105,4%
	249	298	83,6%		1299	1406	92,4%
	470	548	85,8%		2365	1906	124,1%
3	1852	-	-	6	122	-	-
	2061	2009	102,6%		386	366	105,5%
	2255	2259	99,8%		582	616	94,5%
	2734	2759	99,1%		1098	1116	98,4%

9.6 Linearity

Six saliva samples were assayed undiluted and diluted with the calibrator matrix.

Saliva	Dilution	Observed (O)	Expected (E)	O/E %
1	native	1242	-	-
	1 in 2	642	621	103,4%
	1 in 4	354	310	114,2%
	1 in 8	182	155	117,4%
2	native	862	-	-
	1 in 2	440	431	102,1%
	1 in 4	223	216	103,2%
	1 in 8	101	108	93,5%
3	native	1704	-	-
	1 in 2	958	852	112,4%
	1 in 4	470	426	110,3%
	1 in 8	247	213	115,9%
4	native	2527	-	-
	1 in 2	1290	1264	102,1%
	1 in 4	580	632	91,8%
	1 in 8	269	316	85,1%
5	native	324	-	-
	1 in 2	151	162	93,2%
	1 in 4	86	81	106,2%
	1 in 8	40	41	97,5%
6	native	1724	-	-
	1 in 2	856	862	99,3%
	1 in 4	354	431	82,1%
	1 in 8	190	216	88,0%

10 LIMITATIONS OF PROCEDURE

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 Drug Interferences

Until now no substances (drugs) are known influencing the measurement of Progesterone in a saliva sample.

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 patient.

Only in cases where the laboratory results are in acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient 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.

12 REFERENCES

1. Authors: Charles D. West, Damodar K. Mahajan, Virginia J. Chavré et.al.
Title: Simultaneous Measurement of Multiple Plasma Steroids by Radioimmunoassay Demonstrating Episodic Secretion.
Published in: Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism **1973** (36 No.6) pages 1230 – 1236.
2. Authors: Ross F Vining, Robynne A McGingley, Richard G. Symons
Title: Hormones in Saliva: Mode of Entry and Consequent Implications for Clinical Interpretation
Published in: Clinical Chemistry **1983**, Vol 20 (10), pages 1752 - 1756
3. Authors: Jung K. Choe, Firyal S. Khan-Dawood, M. Yusoff Dawood
Title: Progesterone and Estradiol in the saliva and plasma during the menstrual cycle.
Published in: Amer. J. of Obstetrics & Gynecology **1983**, Vol 147 (5), pages 557 - 562
4. Authors: L. Cedard, A. Guichard, Y. Janssens, G. Tanguy, P. Boyer, JR Zorn
Title: Progesterone and Estradiol in saliva after in vitro fertilization and embryo transfer.
Published in: Fertility and Sterility **1987**, Vol 47 (2), pages 278 - 283
5. Authors: Ross F. Vining, Robynne A. McGinley
Title: The Measurement of Hormones in Saliva: Possibilities and Pitfalls
Published in: J. Steroid Biochem. **1987** (27 no.1-3) pages 81-94

6. Authors: Marguerite J.Mc.Neely, Michael R.Soules
Title: The diagnosis of luteal phase deficiency: a critical review
Published in: Fertility and Sterility, **1988** (50 No.1) pages 1 – 15
7. Authors: Michael R. Soules, Donald K. Clifton, Robert A. Steiner et.al.
Title: The Corpus Luteum: Determinants of Progesterone Secretion in the Normal Menstrual Cycle.
Published in: Obstetrics and Gynaecology **1988** (71 no.5) pages 659 – 666
8. Authors: Taru Vuorento, Ilpo Huhtaniemi
Title: Daily levels of salivary Progesterone during menstrual cycle in adolescent girls.
Published in: Fertility and Sterility **1992** (58:4) pages 685 - 690.
9. Authors: M.M. Finn, J.P. Gosling, D.F. Tallon, S. Baynes, F.P. Meehan et.al.
Title: The frequency of salivary Progesterone sampling and the diagnosis of luteal phase insufficiency.
Published in: Gynecol. Endocrinol. **1992** 6 pages 127 - 134
10. Authors: T. Blom, A. Ojanotko-Harri, M. Laine, I. Huhtaniemi
Title: Metabolism of Progesterone and Testosterone in human parotid and submandibular salivary glands *in vitro*.
Published in: J Steroid Biochem Molec Biol **1993**, Vol. 44 No.1, pages 69-76
11. Authors: Torsten M.Delfs, Olaf G.Naether, Susann Klein, Freimut A..Leidenberger, Patrick Fottrell, Ralf C.Zimmermann
Title: 24-Hour profiles of salivary Progesterone
Published in: Fertility and Sterility **1994** (62 no.5) pages 960 – 966
12. Authors: Peter O'Leary, Peter Feddema, Katharine Chan, Mario Taranto, Sharon Evans
Title: Salivary, but not serum or urinary levels of Progesterone are elevated after topical application of Progesterone cream to pre- and postmenopausal women.
Published in: Clinical Endocrinology **2000**, Vol 53, pages 615 - 620.
13. Authors: M. Gröschl, M. Rauh, P. Schmid, H-G Dörr
Title: Relationship between salivary Progesterone, 17OH-Progesterone, and Cortisol levels throughout the normal menstrual cycle of healthy postmenarche girls.
Published in: Fertility & Sterility **2001**, Vol 76 (3), pages 615 - 617
14. Authors: M. Gröschl, M. Rauh, P. Schmid, HG Dörr
Title: Relationship between salivary Progesterone, 17OH-Progetserone, and Cortisol levels throughout the normal menstrual cycle of healthy postmenarcheal girls.
Published in: Fertility and Sterility **2001**, Vol 76 (3), pages 615 - 617
15. Authors: T. Vimpeli, H. Tinkanen, H. Huhtala, L. Rönnerberg, E. Kujansuu
Title: Salivary and serum Progesterone concentrations during two luteal support regimens used in in-vitro fertilization treatments
Published in: Fertility & Sterility **2001**, Vol.4, pages 847-848
16. Authors: Nike Stikkelbroeck, C Sweep, Didi Braat, Ad Hermus, Barto Otten
Title: Monitoring of menstrual cycles, ovulation, and adrenal suppression by saliva sampling in female patients with 21-hydroxylase deficiency.
Published in: Fertility and Sterility **2003**, Vol 80 (4), pages 1030 - 1036
17. Authors: M Gröschl, M Rauh, HG Dörr
Title: Circadian rhythm of salivary Cortisol, 17OHP, and Progesterone in healthy children.
Published in: Clin Chem. **2003**, Vol. 49 (10), pages 1688-1691
18. Authors: RT Chatterton, ET Mateo, N Hou, AW Rademaker, S Acharya, VC Jordan
Title: Characteristics of salivary profiles of Estradiol and Progesterone in postmenopausal women.
Published in: Journal of Endocrinology **2005**, Vol. 186, pages 77-84
19. Author: John G. Lewis
Title: Steroid Analysis in Saliva: An overview (Review article)
Published in: Clin Biochem Rev., August **2006**, Vol.27, pages 139-146
20. Authors: L.J. Bond, E.T. Vella, Y. Kiparissis, K.E. Wynne-Edwards
Title: Anthropometry and body composition do not predict bioavailable Androgen or Progesterone concentration in adolescent girls.
Published in: Am J Hum Biol **2006**, Vol.18, pages 639-653
21. Authors: V.J. Vitzthum, H. Spielvogel, J. Thornburg, B. West
Title: A prospective study of early pregnancy loss in humans
Published in: Fertil Steril **2006**, Vol.86, pages 373-379
22. Authors: MM Wirth, EA Meier, BL Fredrickson, OC Schultheiss
Title: Relationship between salivary Cortisol and Progesterone levels in humans.
Published in: Biological Psychology **2007**, Vol.74, pages 104-107

23. Authors: A. Nunez-de-la-Mora, R.T. Chatterton, O.A. Choudhury, G.R. Bently
Title: Childhood Conditions Influence Adult Progesterone Levels
Published in: www.PLOSmedicine.org **2007**, Vol.4 (5) pages 1-8
24. Authors: B.K. Gandara, L. Leresche, L. Mancl
Title: Patterns of salivary Estradiol and Progesterone across the menstrual cycle.
Published in: Ann. NY Acad. Sci. **2007**, Vol. 1098, pages 446-450

1 EINLEITUNG

Nur für In-vitro Diagnostik. Der DEMEDITEC Progesterone free in Saliva ELISA ist eine Methode zur quantitativen Bestimmung des freien Progesterons in Speichelproben.

Progesteron ist ein Derivat des C21-Steroid Pregnan und wird wie die anderen Steroidhormone durch eine Reihe enzymatischer Reaktionen aus Cholesterin gebildet. Progesteron gehört zur Gruppe der Sexualhormone und hat eine wichtige Bedeutung bei der Ovulation, Fruchtbarkeit und Menopause. Es fördert das Zustandekommen einer Schwangerschaft, indem es die Schleimhaut der Gebärmutter auf die Einnistung der befruchteten Eizelle vorbereitet.

Die Ausschüttung des Progesterons ist abhängig von der Zyklusphase der Frau. In der ersten Zyklushälfte (Follikelphase) ist der Progesteronspiegel sehr gering. Es wird hauptsächlich vom Corpus luteum (Gelbkörper) in der zweiten Phase des Menstruationszyklus (Luteale Phase) und, in wesentlich höheren Mengen, während der Schwangerschaft von der Plazenta gebildet. Der Gelbkörper ist eine Ansammlung fettreicher, Hormon-produzierender Zellen und entsteht in der zweiten Hälfte des Menstruationszyklus unter dem Einfluss des luteinisierenden Hormons (LH) nach dem Follikelsprung (Eisprung oder Ovulation) aus den in der Wand des geplatzten Follikels liegenden Granulosazellen.

Die Bestimmung von Progesteron im Speichel ist die Kombination aus einer hoch sensitiven ELISA-Technologie und einer nicht-invasiven Probensammlung und stellt die Fraktion des freien, metabolisch aktiven Progesterons dar.

2 TESTPRINZIP

Der DEMEDITEC Progesterone free in Saliva ELISA ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay, der auf dem Prinzip der kompetitiven Bindung basiert. Die Vertiefungen der Mikrotiterplatten sind mit einem polyklonalen Antikörper beschichtet, der gegen das Progesteron-Molekül gerichtet ist. Die Proben werden in die beschichteten Vertiefungen gegeben und zusammen mit einem Progesteron-Enzymkonjugat inkubiert. Während der Inkubation konkurriert das Progesteron aus der Probe mit dem Progesteron-Enzymkonjugat um die Bindungsstellen des Antikörpers auf der beschichteten Oberfläche der Vertiefungen. Das nicht gebundene Konjugat wird durch Waschen der Vertiefungen entfernt. Anschließend wird die Substratlösung zugegeben und die Farbentwicklung nach einer definierten Zeit gestoppt. Die Intensität der gebildeten Farbe ist umgekehrt proportional zur Progesteron-Konzentration in der Probe. Die Extinktion wird bei 450 nm mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät gemessen.

3 VORSICHTSMAßNAHMEN

1. Dieser Kit ist nur zum in vitro diagnostischen Gebrauch geeignet und sollte nur von medizinischem Fachpersonal durchgeführt werden.
2. Lesen Sie vor dem Testansatz sorgfältig die Packungsbeilage. Verwenden Sie nur die gültige, im Testkit enthaltene Arbeitsanleitung.
3. Die Mikrotiterplatte enthält teilbare einzeln brechbare Mikrotiterstreifen. Unbenutzte Mikrotiterstreifen sollten im verschlossenen Folienbeutel bei 2 – 8°C aufbewahrt werden und im mitgelieferten Rahmen verwendet werden.
4. Proben und Reagenzien sollten so schnell wie möglich und in einer gleichbleibenden Sequenz pipettiert werden.
5. Verwenden Sie für jedes Reagenz einen separaten Pipettenaufsatz. Das gilt besonders für die Substrat-Lösung. Wenn der Pipettenaufsatz der Substrat-Lösung vorher z.B. für das Konjugat verwendet wurde, kommt es zu einem Farbumschlag der Substrat-Lösung. Gießen Sie Reagenzien nie zurück ins Fläschchen, da so Reagenz-Kontaminationen verursacht werden können.
6. Mischen Sie den Inhalt der Mikrotiterplatte sorgfältig um gute Testergebnisse zu gewährleisten. Mikrotiterplatten nicht wiederverwenden!
7. Mikrotiterstreifen nicht austrocknen lassen während des Testlaufes. Nach jedem Waschschrift zügig im Testprotokoll fortfahren.
8. Bringen sie die Reagenzien vor dem Testansatz auf Raumtemperatur (21-26°C).
9. Nicht mit dem Mund pipettieren und den Kontakt von Kitbestandteilen und Proben mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
10. In den Bereichen, in denen Proben oder Kitbestandteile verwendet werden, nicht rauchen, essen oder Kosmetika verwenden.

11. Beim Umgang mit Proben oder Reagenzien Einweg-Latexhandschuhe tragen. Die Verunreinigung von Reagenzien oder Proben mit Mikroben kann zu falschen Ergebnissen führen.
12. Der Gebrauch sollte in Übereinstimmung mit den Verfahren erfolgen, welche durch eine nationale Gefahrenstoff-Sicherheitsrichtlinie festgelegt sind.
13. Reagenzien nicht nach dem auf dem Kit-Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.
14. Alle im Kit-Protokoll angegebenen Mengen müssen genau eingehalten werden. Optimale Ergebnisse können nur durch Verwendung kalibrierter Pipetten und Mikrotiterplatten-Lesegeräte erreicht werden.
15. Komponenten von Kits mit unterschiedlichen Lotnummern nicht untereinander vertauschen oder mischen. 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 Bindungscharakteristika der Platten leicht unterschiedlich ausfallen.
16. Der Kontakt mit der Stop Solution sollte vermieden werden, da sie Hautreizungen und Verbrennungen verursachen kann.
17. Die Entsorgung aller Bestandteile sollte gemäß der Vorschriften einer entsprechenden nationalen Gefahrenstoff-Sicherheitsrichtlinie erfolgen.
18. Informationen zu im Kit enthaltenen gefährlichen Substanzen entnehmen Sie bitte dem Material Sicherheitsdatenblatt. Material Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage direkt von der Firma Demeditec Diagnostics GmbH erhältlich.

4 BESTANDTEILE DES KITS

4.1 Kitinhalt

1. **SORB MT Mikrotiterplatte**, 12 x 8 (einzeln brechbare) Mikrotiterstreifen mit 96 Vertiefungen beschichtet mit anti-Progesteron-Antikörper (polyklonaler Kaninchen-Antikörper).
2. **CAL 0 Standard 0**, 1 Fläschchen, 3 ml, gebrauchsfertig
3. **CAL 1-6 Standard (Standard 1-6)**, 6 Fläschchen, je 1 ml, gebrauchsfertig;
Konzentrationen: 10 – 30 – 100 – 300 – 1000 – 5000 pg/ml
Umrechnungsfaktor: Progesteron (pg/ml) x 3.18 = pmol/l.
4. **CONTROL 1-2 Kontrolle hoch / Kontrolle niedrig**, 2 Fläschchen, je 1 ml; gebrauchsfertig
Kontrollwerte und –bereiche entnehmen Sie bitte dem QC-Datenblatt.
5. **ENZ CONJ Enzymkonjugat**, 1 Fläschchen, 7 ml, gebrauchsfertig;
Progesterone mit Meerrettichperoxidase konjugiert.
6. **SUB TMB Substratlösung**, 1 Fläschchen, 22 ml, gebrauchsfertig;
enthält Tetramethylbenzidin (TMB)
7. **STOP SOLN Stopplösung**, 1 Fläschchen, 7 ml, gebrauchsfertig;
Enthält 2 N Salzsäure.
8. **WASH SOLN 10x Waschlösung, 10X** konzentriert, 1 Fläschchen, 50 ml;
Siehe „Vorbereitung der Reagenzien“.

Anmerkung: Zusätzlicher *Standard 0* zur Probenverdünnung ist auf Anfrage erhältlich.

4.2 Nicht im Kit enthaltene aber erforderliche Geräte und Materialien

- Kalibriertes Mikrotiterplatten-Lesegerät mit 450±10 nm Filter
- Kalibrierte variable Präzisions-Mikropipetten (50 µl, 100 µl, 200 µl)
- Mikrotiterplatten-Schüttler mit mehr als 600 rpm
- Zentrifuge
- Vortex-Mixer
- Saugfähiges Papier
- Aqua dest.
- Zeitnahmegerät
- Semilogarithmisches Papier oder Software zur Datenverarbeitung

4.3 Lagerung und Haltbarkeit des Kits

Die ungeöffneten Reagenzien sind bei einer Lagertemperatur von 2-8°C bis zum Verfallsdatum haltbar. Die Reagenzien sollten nach überschreiten des Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden.

Nach dem Öffnen sollten alle Reagenzien bei 2-8°C gelagert werden. Die Mikrotiterwells sollten bei 2-8°C gelagert werden. Der einmal geöffnete Folienbeutel sollte stets sehr sorgfältig wieder verschlossen werden.

4.4 Vorbereitung der Reagenzien

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

Waschlösung

Die 10-fach konzentrierte Waschlösung (50 ml) mit 450 ml destilliertem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 500 ml verdünnen. *Die verdünnte Waschlösung ist bei Raumtemperatur für mindestens 12 Wochen stabil.*

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.

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

Proben, die Natriumazid enthalten, sollten nicht verwendet werden. Die Speichelproben sollten vollkommen farblos sein und keine geringfügige Rotfärbung durch eine Blutkontamination aufweisen. Eine Rotfärbung wird bei dieser Bestimmungsmethode immer einen zu hohen Wert ergeben. Bereits die geringste rötliche Färbung sollte Anlass dafür sein, dass der Patient die Probe verwirft, 10 Minuten wartet und dann eine neue Probe nimmt. Während der Sammelperiode darf nichts gekaut werden. Jeder erhöhte Druck auf die Zähne kann zu unerwünschten Einschwemmungen von (unsichtbaren) Blutbestandteilen aus dem Zahnfleisch und damit erhöhten Messwerten führen.

5.1 Probenentnahme

Für die korrekte Speichelsammlung empfehlen wir geeignete Sammelgefäße aus ultra reinem Polypropylen zu verwenden. PE-enthaltende Behältnisse oder Salivetten sind wegen möglicher Interferenzen zum Sammeln von Speichelproben für diesen Test ungeeignet. Glasgefäße sind ebenfalls geeignet, allerdings muss darauf geachtet werden, dass verwendete Stopfen keine Interferenzen zeigen, was bei PE-Stopfen aber zu erwarten ist.

Da die Sekretion der Steroidhormone eine ausgeprägte episodische Dynamik zeigt, ist es erforderlich eine Sammelstrategie anzuwenden, die Zufallsergebnisse vermeidet. Wir empfehlen daher, stets mehrfach Proben zu sammeln. Und zwar sollte man sich dazu einen Zeitraum von 2 Stunden im Laufe eines Tages aussuchen, in dem dann 5 Proben im Abstand von jeweils 30 Minuten genommen werden können. Vor und während dieser Sammelperiode darf keine Nahrung (fest oder flüssig) aufgenommen werden. Wenn ein Fasten vor der Sammelperiode zu schwierig sein sollte, darf in begrenzten Mengen vegetarische Nahrung gegessen werden. Milch- und Fleischprodukte sind aber in jedem Fall zu vermeiden. Das Trinken von Wasser ist jederzeit erlaubt und sogar empfohlen, um den Speichelfluss anzuregen. Das Wassertrinken ist in den letzten 5 Minuten vor dem eigentlichen Speichelsammeln zu unterlassen. Die Sammelperiode sollte möglichst in einer 2-Stunden-Periode vor einer geplanten Mahlzeit gelegt werden.

Bezüglich einer eventuellen Rotfärbung der Proben siehe Anfang des Kapitels 5.

5.2 Probenaufbewahrung und Vorbereitung

Die Proben können falls erforderlich mehrere Tage bei Raumtemperatur aufbewahrt werden. Daher kann man diese Proben auch problemlos und ohne Kühlung per Post versenden. Eine Aufbewahrung bei 4°C ist aber vorzuziehen und kann bis zu einem Monat lang vorgenommen werden. Wenn möglich sollte man aber die Proben sicherheitshalber bei -20°C aufbewahren, wobei mehrfache Gefrier- und Auftauzyklen unbedenklich sind. In jedem Fall muss jede Speichelprobe ohnehin zumindest einmal einen Gefrier- und Auftauzyklus durchlaufen, um die Mucine durch Zentrifugation entfernen zu können. Daher sollten die Speichelproben nach der Ankunft im Labor erst einmal eingefroren werden. Zur eigentlichen Messung der Hormonkonzentration werden dann alle Speichelproben wieder aufgetaut und 5 bis 10 Minuten lang zentrifugiert. Der Überstand sollte nun klar und farblos sein. Schon bei der leichtesten Rotfärbung sollte die Probe verworfen und eine neue Probe angefordert werden. Auch nur leicht rötlich gefärbte Proben zeigen immer zu hohe Konzentrationswerte. Wegen der episodischen Sekretionsmuster sollten in der Routine immer Mehrfachproben eingesetzt werden (siehe oben). Die 5 zu einer Abnahmeserie gehörenden Proben werden wie oben beschrieben vorbereitet. Sodann werden Aliquots aus jeder Einzelprobe in einem separaten Probengefäß gemischt. Aus dieser Mischung wird dann die eigentliche Messung vorgenommen.

5.3 Probenverdünnung

Wenn in einem ersten Testdurchlauf bei einer Probe eine Konzentration höher als der höchste Standard gefunden wird, kann diese Probe mit Standard 0 weiter verdünnt und nochmals bestimmt werden. Die Verdünnung muss jedoch bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden.

Beispiel:

- a) Verdünnung 1:10: 10 µl Speichelprobe + 90 µl Standard 0 (gründlich mischen)
 b) Verdünnung 1:100: 10 µl Verdünnung a + 90 µl Standard 0 (gründlich mischen).

6 TESTDURCHFÜHRUNG

6.1 Allgemeine Hinweise

- Alle Reagenzien und Proben müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht und gut durchgemischt 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 sollte eine neue Pipettenspitze verwendet werden, 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.
- Die in der Gebrauchsanweisung angegebenen Inkubationszeiten müssen eingehalten werden.

6.2 Testdurchführung

Jeder Lauf muss eine Standardkurve beinhalten.

1. Die benötigte Anzahl an **Mikrotiterstreifen** in der Halterung befestigen.
2. Je **100 µl Standards, Kontrollen und Proben** mit neuen Plastikspitzen in die entsprechenden Vertiefungen geben.
3. **50 µl Enzymkonjugat** in jede Vertiefung geben.
4. **60 Minuten** bei Raumtemperatur auf einem Mikrotiterplatten-Schüttler inkubieren.

Achtung:

Eine optimale Reaktion wird erheblich beeinflusst durch das Schütteln der Mikrotiterplatte!

5. Den Inhalt der Vertiefungen kräftig ausschütten. Vertiefungen 4mal mit verdünnter Waschlösung (300 µl) waschen. Restliche Flüssigkeit durch Ausklopfen der Mikrotiterplatte auf saugfähigem Papier entfernen.
6. **200 µl Subratlösung** in jede Vertiefung geben.
7. **30 Minuten** bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren.
8. Die enzymatische Reaktion durch Zugabe von **50 µl Stopp-Lösung** in jede Vertiefung abstoppen.

9. Die Optische Dichte bei **450±10 nm** mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät innerhalb von 15 Minuten nach Zugabe der Stopp-Lösung bestimmen.

6.3 Ergebnisermittlung

- Die durchschnittlichen Werte der Optischen Dichte (OD) für jedes Set von Standards, Kontrollen und Patientenproben bestimmen.
- 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.
- Unter Verwendung der mittleren OD wird für jede Probe die entsprechende Konzentration aus der Standardkurve ermittelt.
- 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.
- 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.

Umrechnung in SI Einheiten:

Progesterone (pg/ml) x 3.18 = pmol/l

6.3.1 Beispiel für eine Standardkurve

Nachfolgend wird ein typisches Beispiel für eine Standardkurve mit dem DEMEDITEC Progesterone free in Saliva ELISA gezeigt. Diese darf aber nicht zur Kalkulation eines anderen Testlaufes verwendet werden.

Standard	Optische Dichte (450nm)
Standard 0 (0 pg/ml)	2.326
Standard 1 (10 pg/ml)	2.103
Standard 2 (30 pg/ml)	1.912
Standard 3 (100 pg/ml)	1.548
Standard 4 (300 pg/ml)	1.257
Standard 5 (1000 pg/ml)	0.831
Standard 6 (5000 pg/ml)	0.455

7 ERWARTETE WERTE

In einer Studie wurden die Speichelproben von 101 Männern und 268 Frauen (gesunde Individuen) im Alter von 15 bis 75 Jahren untersucht. Die Proben wurden morgens gesammelt.

Dabei ergaben sich mit dem DEMEDITEC Progesterone free in Saliva ELISA folgende Werte:

	Alter	Salivary progesterone pg/ml (5 – 95% Percentile)
Frauen	15 - 55 J. Follikularphase n = 38	3,7 – 81,4 pg/ml
	15 - 55 J. Lutealphase n = 116	73,1 – 271,5 pg/ml
	> 55 J. Postmenopausal n = 114	5,5 – 98,9 pg/ml
Männer Kinder (Jungen)	15 - 75 J. n = 101	8,6 – 107,0 pg/ml
	< 12 J. n = 7	14,5 – 43,4 pg/ml

Therapeutische Konsequenzen sollten nicht allein auf Basis der mit diesem Test ermittelten Werte getroffen werden, sondern unter Berücksichtigung klinischer Beobachtungen und weiterer diagnostischer Tests. Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen normalen und abnormalen Werte ermittelt. Die Werte sind altersabhängig und unterscheiden sich bei Neugeborenen, Kindern, Jugendlichen und Erwachsene.

8 QUALITÄTSKONTROLLE

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 normalen als auch pathologischen Werten 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 ungültig 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 Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität, definiert als Mittelwert minus der zweifachen Standardabweichung des Standards 0 beträgt 5,0 pg/ml.

9.2 Spezifität der Antikörper (Kreuzreaktivität)

Die Daten entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Arbeitsanleitung.

9.3 Messbereich

Der Messbereich des Testes liegt zwischen 10 – 5000 pg/ml.

Die Daten zu:

9.4 Präzision

9.5 Wiederfindung

9.6 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 Kontamination der Speichelproben mit Blut von mehr als 0,16 % beeinflusst das Ergebnis. Eine solche Verunreinigung kann bereits mit den Augen wahrgenommen werden. Konzentrationen von Natriumazid über 0,02 % beeinflussen den Test und können zu falschen Ergebnissen führen.

10.2 Beeinflussung durch Medikamente

Uns sind bislang keine Stoffe (Medikamente) bekannt geworden, deren Einnahme die Messung des Testosteron-Gehaltes der Probe beeinflussen würde.

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 eines Patienten. Nur in Fällen, in denen die Laborergebnisse in akzeptabler Übereinstimmung mit dem allgemeinen klinischen Bild des Patienten 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.

12 REFERENZEN

Angaben zu den Referenzen entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Arbeitsanleitung.

SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ELISA

Symbol	English	Deutsch	Français	Espanol	Italiano
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consultez le Mode d'emploi	Consulte las Instrucciones	Consulti le istruzioni
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	Diagnostic in vitro	Diagnóstico in vitro	Diagnostica in vitro
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Référence	No 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	Temperature de conservation	Temperatura de conservacion	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	Pocillos de la Microplaca	Micropozzetti
<i>Enzyme Conjugate</i>	Enzyme Conjugate	Enzymkonjugat	Conjugué enzymatique	Conjugado enzimático	Tracciante 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 paro	Soluzione d'arresto
<i>Zero Standard</i>	Zero Standard	Nullstandard	Standard 0	Standard 0	Standard zero
<i>Standard</i>	Standard	Standard	Standard	Calibrador	Standard
<i>Control</i>	Control	Kontrolle	Contrôle	Control	Controllo
<i>Wash Solution</i>	Wash Solution	Waschlösung	Solution de lavage	Solución de lavado	Soluzione di lavaggio
<i>Conjugate Diluent</i>	Conjugate Diluent	Konjugatverdünnungsmedium	Solution pour dilution du conjugué		Diluyente del tracciante

Symbol	Portugues	Dansk	Svenska	Ελληνικά
	Conformidade com as normas europeias	Europaeisk overensstemmelse	Europeisk överensstämmelse	Ευρωπαϊκή Συμμόρφωση
	Instruções de uso	Brugermanual	Användar manual	Εγχειρίδιο χρήστη
	Diagnóstico in vitro	In vitro diagnostik	Diagnostik in vitro	in vitro διαγνωστικό
	Catálogo n.º	Katalognummer	Katalog nummer	Αριθμός καταλόγου
	No do lote	Lot nummer	Batch-nummer	Αριθμός Παρτίδος
		Indeholder tilstrækkeligt til "n" test	Innehåller tillräckligt till "n" tester	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις
	Temperatura de conservação	Opbevaringstemperatur	Förvaringstemperatur	Θερμοκρασία αποθήκευσης
	Prazo de validade	Udløbsdato	Bäst före datum	Ημερομηνία λήξης
	Fabricante	Producent	Tillverkare	Κατασκευαστής
<i>Distributed by</i>				
<i>Content</i>	Conteúdo	Indhold	Innehåll	Περιεχόμενο
<i>Volume/No.</i>	Volume/Número	Volumen/antal	Volym/antal	Όγκος/αριθ..
<i>Microtiterwells</i>	Alvéolos de microtitulação	Mikrotiterbrønde	Brunnar i Mikrotiterplatta	Πηγαδάκια Μικροτιτλοδοτήσεως
<i>Enzyme Conjugate</i>	Conjugado enzimático	Enzymkonjugat	Enzymkonjugat	Συζευγμένο ενζυμο
<i>Substrate Solution</i>	Solução de substrato	Substratopløsning	Substratlösning	Διάλυμα υποστρώματος
<i>Stop Solution</i>	Solução de paragem	Stopopløsning	Stopp lösning	Διάλυμα τερματισμού
<i>Zero Standard</i>	Padrão zero	Standard 0	Standard 0	Πρότυπο Μηδέν
<i>Standard</i>	Calibrador	Standard	Standard	Πρότυπα
<i>Control</i>	Controlo	Kontrol	Kontroll	Έλεγχος
<i>Wash Solution</i>	Solução de lavagem	Vaskebuffer	Tvätt lösning	Διάλυμα πλύσεως
<i>Conjugate Diluent</i>				