

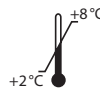
IDKmonitor[®] Etanercept free ADA

*Zur in vitro Bestimmung von freien humanen Antikörpern
gegen Etanercept (z.B. ENBREL[®]) in EDTA-Plasma und Serum*

IDKmonitor[®] Etanercept free ADA

*For the in vitro determination of free human antibodies
against etanercept (e.g. ENBREL[®]) in EDTA-plasma
and serum*

Gültig ab / Valid from 2015-02-05



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, D-64625 Bensheim

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 849430

e.mail: info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

Inhalt

1. VERWENDUNGSZWECK	2
2. EINLEITUNG	2
3. INHALT DER TESTPACKUNG	2
4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL	2
5. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZEN	3
6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG	4
7. TESTDURCHFÜHRUNG	4
<i>Testprinzip</i>	4
<i>Pipettierschema</i>	4
8. ERGEBNISSE	6
9. EINSCHRÄNKUNGEN	6
10. QUALITÄTSKONTROLLE	6
11. VORSICHTSMASSNAHMEN	6
12. TECHNISCHE MERKMALE	7
13. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST	7

1. VERWENDUNGSZWECK

Der hier beschriebene Assay ist für die Bestimmung von freien humanen Antikörpern gegen Etanercept (z.B. Enbrel®) in EDTA-Plasma und Serum geeignet. Nur zur *in-vitro*-Diagnostik.

2. EINLEITUNG

Der IDKmonitor Etanercept bestimmt zuverlässig die freien ADA gegen Etanercept (z.B. Enbrel®). Anti-TNF α Therapieantikörper werden zur Suppression bei Rheumapatienten eingesetzt. Während der Therapie ist es möglich, dass die Patienten Antikörper gegen die anti-TNF α Therapieantikörper entwickeln. Dadurch ist mit erheblichen Komplikationen bis hin zum anaphylaktischen Schock zu rechnen.

3. INHALT DER TESTPACKUNG

Art.-Nr.	Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge
K 9653	PLATE	Mikrotiterplatte, vorbeschichtet	12 x 8 wells
K 9653	WASHBUF	ELISA-Waschpufferkonzentrat 10x	1 x 100 ml
K 9653	CONJ	Konjugat (Peroxidase-markiert), Konzentrat	1 x 200 μ l
K 9653	CTRL NEG	Positivkontrolle, lyophilisiert	4 x 1 vial
K 9653	CTRL POS	Negativkontrolle, lyophilisiert	4 x 1 vial
K 9653	SAMPLEBUF	Probenpuffer, gebrauchsfertig	1 x 30 ml
K 9653	SUB	TMB-Substrat (Tetramethylbenzidin), gebrauchsfertig	1 x 15 ml
K 9653	STOP	ELISA-Stopplösung, gebrauchsfertig	1 x 15 ml

Für Nachbestellungen von Einzelkomponenten verwenden Sie als Bestellnummer die Artikelnummer gefolgt von der Bezeichnung.

4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Reinstwasser*
- Präzisionspipetten und Pipettenspitzen für den Einmalgebrauch mit variablen Volumina von 10–1000 μ l
- Folie zum Abkleben der Mikrotiterplatte
- Mikrotiterplattenschüttler
- Multikanal- bzw. Multipipette

- Vortex-Mixer
- Zentrifuge, 3000 g
- Laborübliche Glas- oder Plastikröhrchen (Einmalartikel)
- Mikrotiterplattenphotometer (benötigte Filter siehe Kapitel 7)

* Immundiagnostik AG empfiehlt die Verwendung von Reinstwasser nach ISO 3696. Es handelt sich dabei um Wasser des Typs 1, welches frei von ungelösten und kolloidalen Ionen und organischen Molekülen ist (frei von Partikeln > 0,2 µm) mit einer elektrischen Leitfähigkeit von 0,055 µS/cm bei 25 °C (≥ 18,2 MΩ cm).

5. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Bitte achten Sie bei mehrfachem Einsatz des Kits darauf, dass die Reagenzien wie in der Vorschrift beschrieben gelagert und **nur die für den jeweiligen Ansatz benötigten Reagenzienmengen frisch angesetzt werden**. Der Kit kann so bis zu 4x je nach Probenaufkommen bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden.
- Reagenzien mit einem **Volumen kleiner 100 µl** sollten vor Gebrauch kurz anzentrifugiert werden, um Volumenverluste zu vermeiden.
- **Vorbereitung des Waschpuffers:** Das **Waschpufferkonzentrat (WASHBUF)** muss vor Gebrauch **1:10** in Reinstwasser verdünnt werden (100 ml WASHBUF + 900 ml Reinstwasser), gut mischen. Aufgrund der hohen Salzkonzentration in den Stammlösungen kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich bei Raumtemperatur bzw. im Wasserbad bei 37 °C auf. Der **WASH-BUF** kann bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum aufbewahrt werden. Der **Waschpuffer** (1:10 verdünnter WASHBUF) ist bei **2–8 °C einen Monat** in einem geschlossenen Gefäß haltbar.
- Die **lyophilisierten Kontrollen** (CTRL pos und CTRL neg) sind bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Die Kontrollen werden mit **500 µl** Reinstwasser rekonstituiert und zum Lösen 10 Minuten stehen gelassen. **Rekonstituierte Kontrollen können nicht gelagert werden**.
- **Vorbereitung des Konjugats:** Das **Konjugatkonzentrat (CONJ)** wird unmittelbar vor Gebrauch **1:101** in **Waschpuffer** verdünnt (100 µl CONJ + 10 ml Waschpuffer). Das CONJ ist bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. **Konjugat** (1:101 verdünntes CONJ) **ist nicht stabil und kann nicht aufbewahrt werden**.
- Alle anderen Testreagenzien sind bei **2–8 °C** zu lagern und bei entsprechender Lagerung bis zum angegebenen Verfallsdatum (siehe Etikett) verwendbar.

6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG

Lagerung

Frisch abgenommenes EDTA-Plasma bzw. Serum kann einen Tag bei Raumtemperatur (15–30 °C) gelagert werden. Bei längeren Aufbewahrungszeiten sind die Proben bei -20 °C zu lagern.

EDTA-Plasma und Serum

EDTA-Plasma- oder Serumproben werden vor dem Einsatz im Test **1:10** verdünnt und gut gemischt, z.B.

25 µl Probe + 225 µl SAMPLEBUF (Verdünnungspuffer)

Für den Einsatz im Test werden je **100 µl** jeder verdünnten Probe im Test eingesetzt. Für die Analyse der empfohlenen Doppelwerte werden **2 x je 100 µl** benötigt.

7. TESTDURCHFÜHRUNG

Testprinzip

Dieser ELISA dient zur qualitativen Bestimmung der freien Antikörper gegen Etanercept (z. B. Enbrel®). In diesem Assay bindet der freie Antikörper aus der Probe an auf der Platte fixiertes Etanercept. Nach einem Waschschrift erfolgt die Detektion des gebundenen anti-Etanercept-Antikörpers durch Zugabe eines Peroxidase-Konjugats (POD-Therapieantikörper). Als Peroxidasesubstrat wird Tetramethylbenzidin (TMB) eingesetzt. Die Enzymreaktion wird durch Zugabe von Säure abgestoppt. Dadurch erfolgt ein Farbumschlag von blau nach gelb. Die entstandene chromogene Verbindung wird photometrisch bei 450 nm gemessen. Die Intensität der Farbe ist dem Gehalt der freien Antikörper gegen Etanercept (z. B. Enbrel®) direkt proportional. Die Auswertung erfolgt über den Cut-off-Wert.

Pipettierschema

Vor Gebrauch **alle Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur (15–30 °C)** bringen, gut mischen.

Markieren Sie die Positionen für STD/SAMPLE/CTRL (Standards/Proben/Kontrollen) im Protokollblatt.

Die benötigten Mikrotiterstreifen aus dem Kit nehmen. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen können abgeklebt bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum bei 2–8 °C gelagert werden.

Im Fall einer automatisierten Abarbeitung des Tests können automaten-spezifische Anpassungen der Prozedur notwendig sein, um den jeweiligen technischen

Gegebenheiten gerecht zu werden. Für Unterstützung und Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihren Anbieter oder Immundiagnostik AG.

Wir empfehlen, die Bestimmungen in Doppelwerten durchzuführen.

1.	Mikrotiterstreifen 5 x mit je 250 µl Waschpuffer waschen und nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen.
2.	100 µl CTRL NEG, CTRL POS (Kontrollen) und vorbereitete Proben in die Vertiefungen pipettieren.
3.	Streifen mit Folie abdecken und 2 Stunden bei Raumtemperatur (15–30°C) unter Schütteln inkubieren.
4.	Den Inhalt der Platte verwerfen und 5 x mit je 250 µl Waschpuffer waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen.
5.	100 µl Konjugat pro Vertiefung pipettieren.
6.	Streifen mit Folie abdecken und 1 Std. bei Raumtemperatur (15–30 °C) unter Schütteln inkubieren.
4.	Den Inhalt der Platte verwerfen und 5 x mit je 250 µl Waschpuffer waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen.
8.	100 µl TMB-Substratlösung pro Vertiefung pipettieren.
9.	5 – 15 Minuten bei Raumtemperatur im Dunklen inkubieren.*
10.	100 µl Stopplösung zusetzen und kurz mischen.
11.	Extinktion sofort im Mikrotiterplattenphotometer bei 450 nm gegen die Referenzwellenlänge 620 nm (oder 690 nm) messen. Ist keine Referenzwellenlänge vorhanden, wird nur bei 450 nm gelesen. Falls die Extinktion des höchsten Standards den Messbereich des Photometers übersteigt, sollte sofort bei 405 nm gegen 620 nm (690 nm) gemessen werden.

* Die Intensität der Farbentwicklung ist temperaturabhängig. Es wird empfohlen den Farbumschlag während der Inkubationszeit zu beobachten und entsprechend der Farbentwicklung die Reaktion zu stoppen.

8. ERGEBNISSE

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgt über den **Cut-off-Wert**. Der Cut-off-Wert wird durch Multiplikation der mittleren optischen Dichte (OD) der **Negativkontrolle** mit dem **Faktor 3,5** bestimmt.

Proben, deren mittlere OD oberhalb des Cut-off-Werts liegt, sind positiv.

Proben, deren mittlere OD unterhalb des Cut-off-Werts liegt, sind negativ.

Rechenbeispiel:

OD (Negativkontrolle)	=	0,011		
Cut-off-Wert	=	$0,011 \times 3,5 = 0,038$		
OD (Probe)	>	0,038	=	positiv
OD (Probe)	≤	0,038	=	negativ

9. EINSCHRÄNKUNGEN

Proben, welche nicht eindeutig interpretierbar sind (z. B. aufgrund hoher Variationskoeffizienten der Replikate), sollten wiederholt werden.

10. QUALITÄTSKONTROLLE

Immundiagnostik empfiehlt den Einsatz von externen Kontrollen für die interne Qualitätskontrolle, wenn möglich.

Wir empfehlen, bei jedem Testansatz Kontrollen mitzumessen. Die Ergebnisse der Kontrollen müssen auf Richtigkeit überprüft werden. Liegen eine oder mehrere Kontrollen außerhalb des angegebenen Bereiches, kann Immundiagnostik die Richtigkeit der Messergebnisse nicht gewährleisten.

11. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in-vitro*-Diagnostik verwendet werden.
- Das für Kitkomponenten verwendete humane Material wurde auf HIV, Hepatitis B und Hepatitis C getestet und für negativ befunden. Dennoch wird empfohlen, die Kitkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material zu behandeln.
- Die Kitkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen Natriumazid oder ProClin. Natriumazid bzw. ProClin sind giftig. Auch Substrate

für enzymatische Farbreaktionen sind als giftig und karzinogen beschrieben. Jeder Kontakt mit Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.

- Die Stopplösung besteht aus verdünnter Schwefelsäure (H_2SO_4). H_2SO_4 ist eine starke Säure und muss auch in verdünnter Form mit Vorsicht benutzt werden. H_2SO_4 verursacht bei Kontakt mit der Haut Verätzungen. Es sollte daher mit Schutzhandschuhen, Schutzkleidung und Schutzbrille gearbeitet werden. Bei Kontakt mit der Säure muss die verätzte Stelle sofort mit viel Wasser gespült werden.

12. TECHNISCHE MERKMALE









- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden. Ferner dürfen Kavitäten unterschiedlicher Mikrotiterplatten, selbst der gleichen Charge, nicht zusammengefügt und zur Analyse verwendet werden.
- Qualitätskontrollen sollten immer mitgemessen werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Substratlösung muss vor Gebrauch farblos sein.
- Mikrotiterstreifen müssen während den Inkubationen mit Folie abgedeckt sein.
- Vermeiden Sie Schaumbildung beim Mischen der Reagenzien.
- Stopfen und Verschlüsse verschiedener Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Der Assay ist immer nach der im Kit beigegeführten Arbeitsanleitung durchzuführen.

13. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD-Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Für die Qualitätskontrolle sind die für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.
- *IDK*® ist eine Marke der Immundiagnostik AG.

- Die Testcharakteristika wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettiervolumina der verschiedenen Komponenten wurden vom Hersteller festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik AG übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller, der Immundiagnostik AG, zurückzusenden.

Verwendete Symbole:

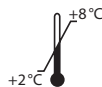
	Temperaturbegrenzung		Bestellnummer
	In-Vitro-Diagnostikum		Zu verwenden mit
	Hersteller		Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen
	Chargenbezeichnung		Verwendbar bis

IDKmonitor[®] Etanercept free ADA

*For the in vitro determination of free human antibodies
against etanercept (e.g. ENBREL[®]) in EDTA-plasma
and serum*

Valid from 2015-02-05

REF K 9653



IVD **CE**



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, D-64625 Bensheim

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 849430

e.mail: info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

Table of Contents

1. INTENDED USE	11
2. INTRODUCTION	11
3. MATERIAL SUPPLIED	11
4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED	11
5. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS	12
6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES	13
7. ASSAY PROCEDURE	13
<i>Principle of the test</i>	13
<i>Test procedure</i>	13
8. RESULTS	14
9. LIMITATIONS	15
10. QUALITY CONTROL	15
11. PRECAUTIONS	15
12. TECHNICAL HINTS	16
13. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE	16

1. INTENDED USE

The here described ELISA Kit is intended for the qualitative determination of free human antibodies against etanercept (e.g. Enbrel®) in EDTA-plasma and serum. For *in vitro* diagnostic.

2. INTRODUCTION

The IDKmonitor® Etanercept free ADA ELISA for the detection of antibodies against etanercept (e.g. Enbrel®) measures free antibodies against etanercept. Anti-TNF α therapeutic antibodies are used for suppressing therapy in rheumatic patients. There is a possibility that patients under anti-TNF α -antibody therapy develop antibodies against the therapeutic antibodies. This might lead to severe complications, even to a systemic anaphylaxis with possibly lethal outcome.

3. MATERIAL SUPPLIED

Cat. No.	Label	Kit components	Quantity
K 9653	PLATE	One holder with strips, precoated with	12 x 8 wells
K 9653	WASHBUF	ELISA wash buffer concentrate 10x	1 x 100 ml
K 9653	CONJ	POD antibody, (peroxidase labelled), concentrate	1 x 200 μ l
K 9653	CTRL NEG	Negative control, lyophilised	4 x 1 vial
K 9653	CTRL POS	Positive control, lyophilised	4 x 1 vial
K 9653	SAMPLEBUF	Sample buffer, ready to use	1 x 30 ml
K 9653	SUB	TMB substrate (Tetramethylbenzidine), ready to use	1 x 15 ml
K 9653	STOP	ELISA stop solution, ready to use	1 x 15 ml

For reorders of single components, use the catalogue number followed by the label as product number.

4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Ultra pure water*
- Calibrated precision pipettors and 10–1000 μ l tips
- Foil to cover the microtiter plate
- Horizontal microtiter plate shaker
- Multi-channel pipets or repeater pipets

- Centrifuge, 3000 g
- Vortex
- Standard laboratory glass or plastic vials, cups, etc.
- Microtiter plate reader (required filters see chapter 7)

* Immundiagnostik AG recommends the use of Ultra Pure Water (Water Type 1; ISO 3696), which is free of undissolved and colloidal ions and organic molecules (free of particles > 0.2 µm) with an electrical conductivity of 0.055 µS/cm at 25 °C (≥ 18.2 MΩcm).

5. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS

- To run the assay more than once, ensure that reagents are stored at the conditions stated on the label. **Prepare only the appropriate amount necessary for each run.** The kit can be used up to 4 times within the expiry date stated on the label.
- Reagents with a volume less than **100 µl** should be centrifuged before use to avoid loss of volume.
- **Preparation of the wash buffer:** The **wash buffer concentrate (WASHBUF)** should be diluted with ultra pure water **1:10** before use (100 ml WASHBUF + 900 ml ultra pure water), mix well. Crystals could occur due to high salt concentration in the stock solutions. The crystals must be redissolved at room temperature or in a water bath at 37 °C before dilution of the buffer solutions. The **WASHBUF** is stable at **2–8 °C** until the expiry date stated on the label. **Wash buffer** (1:10 diluted WASHBUF) can be stored in a closed flask at **2–8 °C for one month.**
- The lyophilized **controls (CTRLNEG and CTRLPOS)** must be reconstituted with **500 µl** of ultra pure water. Allow the vial content to dissolve for 10 minutes at room temperature, and mix thoroughly by gentle inversion to insure complete reconstitution. The undiluted controls are stable at **2–8 °C** until expiry date stated on the label. **Reconstituted controls are not stable and cannot be stored.**
- **Preparation of the conjugate:** The **conjugate concentrate (CONJ)** must be diluted **1:101** in wash buffer (100 µl CONJ + 10 ml wash buffer). The CONJ is stable at **2–8 °C** until expiry date stated on the label. **Conjugate** (1:101 diluted CONJ) **is not stable and cannot be stored.**
- All other test reagents are ready to use. Test reagents are stable until the expiry date (see label of test package) when stored at **2–8 °C.**

6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES

Storage

Freshly collected EDTA-plasma or serum can be stored for one day at room temperature (15–30°C) or for longer storage at -20°C.

EDTA-plasma and Serum

EDTA-plasma or serum samples must be diluted **1:10** before performing the assay, e.g.

25 µl sample + 225 µl SAMPLEBUF (dilution buffer), mix well.

For analysis, pipet **100 µl** of each diluted sample per well. For the recommended analysis in duplicate, **2 x 100 µl** are required.

7. ASSAY PROCEDURE

Principle of the test

This ELISA is a sandwich assay for the determination of free antibodies against etanercept (e.g. Enbrel®). In a first incubation step, the free anti-therapeutic antibodies from the sample are bound to etanercept coated on the plate. To remove all unbound substances, a washing step is carried out. In a further incubation step, a peroxidase labeled therapy antibody is added. After another washing step, to remove all unbound substances, the solid phase is incubated with the substrate, Tetramethylbenzidine (TMB). An acidic stop solution is then added. The colour converts to yellow. The absorbance of the color compound is determined photometrically at 450 nm. The intensity of the color is directly proportional to the amount of bound anti-etanercept (e.g. Enbrel®) antibodies from the sample. The results are evaluated by a cut-off value.

Test procedure

Bring all **reagents and samples to room temperature** (15–30°C) and mix well.

Mark the positions of STD /SAMPLE/CTRL (standards/sample/controls) on a protocol sheet.

Take as many microtiter strips as needed from kit. Store unused strips covered at 2–8° C. Strips are stable until expiry date stated on the label.

For automated ELISA processors, the given protocol may need to be adjusted according to the specific features of the respective automated platform. For further details please contact your supplier or Immundiagnostik AG.

We recommend to carry out the tests in duplicate.

1.	Wash the pre-coated microtiter plate 5 x with 250 µl wash buffer . After the final washing step, the inverted microtiter plate should be firmly tapped on absorbent paper.
2.	Add 100 µl of STD/CTRL/SAMPLE into the respective wells.
3.	Cover the strips and incubate for 2 hours at room temperature (15–30 °C) shaking on a horizontal mixer.
4.	Aspirate the content of the plate and wash each well 5 x with 250 µl wash buffer . After the final washing step, the inverted microtiter plate should be firmly tapped on absorbent paper.
5.	Add 100 µl conjugate into each well.
6.	Cover the strips and incubate for 1 hour at room temperature (15–30 °C) shaking on a horizontal mixer.
4.	Aspirate the content of the plate and wash each well 5 x with 250 µl wash buffer . After the final washing step, the inverted microtiter plate should be firmly tapped on absorbent paper.
8.	Add 100 µl SUB (TMB substrate) in each well.
9.	Incubate for 5–15 minutes* at room temperature (15–30 °C) in the dark.
10.	Add 100 µl STOP (ELISA stop solution) and mix well.
11.	Determine absorption immediately with an ELISA reader at 450 nm against 620 nm (or 690 nm) as a reference. If no reference wavelength is available, read only at 450 nm. If the extinction of the highest standard exceeds the range of the photometer, absorption must be measured immediately at 405 nm against 620 nm as a reference.

* The intensity of the color change is temperature sensitive. We recommend observing the color change and stopping the reaction upon good differentiation.

8. RESULTS

The results are evaluated by a **cut-off value** which is estimated by multiplying the optical density (OD) of the **negative control** by **3.5**.

Samples with a mean OD above the cut-off value are positive.

Samples with a mean OD below the cut-off value are negative.

Example:

OD (negative control)	=	0.011		
Cut-off value	=	$0.011 \times 3,5 = 0,038$		
OD (Sample)	>	0.038	=	positive
OD (Sample)	≤	0.038	=	negative

9. LIMITATIONS

Samples which cannot be clearly interpreted (e.g. because of high coefficients of variation of replicates) should be measured again.

10. QUALITY CONTROL

Immundiagnostik recommends the use of external controls for internal quality control, if possible.

Control samples should be analysed with each run. Results, generated from the analysis of control samples, should be evaluated for acceptability using appropriate statistical methods. The results for the patient samples may not be valid if within the same assay one or more values of the quality control sample are outside the acceptable limits.

11. PRECAUTIONS

- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- Human materials used in kit components were tested and found to be negative for HIV, Hepatitis B and Hepatitis C. However, for safety reasons, all kit components should be treated as potentially infectious.
- Kit reagents contain sodium azide or ProClin as bactericides. Sodium azide and ProClin are toxic. Substrates for the enzymatic color reactions are toxic and carcinogenic. Avoid contact with skin or mucous membranes.
- The stop solution consists of diluted sulphuric acid, a strong acid. Although diluted, it still must be handled with care. It can cause burns and should be handled with gloves, eye protection, and appropriate protective clothing. Any spill should be wiped up immediately with copious quantities of water. Do not breath vapour and avoid inhalation.

12. TECHNICAL HINTS

- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay. Furthermore we recommend not assembling wells of different microtiter plates for analysis, even if they are of the same batch.
- Control samples should be analyzed with each run.
- Reagents should not be used beyond the expiration date stated on kit label.
- Substrate solution should remain colourless until use.
- To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary.
- Avoid foaming when mixing reagents.
- Do not mix plugs and caps from different reagents.
- The assay should always be performed according the enclosed manual.

13. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- This assay was produced and distributed according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- The guidelines for medical laboratories should be followed.
- *IDK*® is a trademark of Immundiagnostik AG.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the components are defined by the producer. Any variation of the test procedure, which is not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage resulting from incorrect use.
- Warranty claims and complaints regarding deficiencies must be logged within 14 days after receipt of the product. The product should be send to Immundiagnostik AG along with a written complaint.

Used symbols:

Temperature limitation



Catalogue Number



In Vitro Diagnostic Medical Device



To be used with



Manufacturer



Contains sufficient for <n> tests



Lot number



Use by