

S100 ELISA

Immunosorbent assay for quantitative measurement of
S100B protein in human serum

Instruction Manual

Manuel d'Instructions

Testanleitung

Manual de Instrucciones

Manuale di Istruzioni

Manual de Instruções

Brugsvejledning

Bruksanvisning

Εγχειρίδιο οδηγιών

REF: 364701

DiaSorin

Stillwater, Minnesota 55082-0285, U.S.A.

TABLE OF CONTENTS

English	Page 1
Français	7
Deutsch	13
Español	19
Italiano.....	25
Português	31
Dansk	37
Svenska	43
Ελληνικά	49

1. INTENDED USE

This product is intended FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY.

Immunoassay for the in vitro quantitative determination of S100 in human serum. S100 is intended for use as an aid in the management of patients suffering from malignant melanoma.

2. PRINCIPLE OF THE TEST

The S100 ELISA is a two-site, one-step, enzyme linked immunosorbent assay. In the assay calibrators, controls and unknown samples react simultaneously with 2 solid phase capture antibodies and a detector antibody conjugated with horseradish peroxidase (HRP) during the incubation in the microtiter wells. After a washing step a TMB chromogen (Tetramethylbenzidine) is added and the reaction is allowed to proceed for 15 minutes. The enzyme reaction is stopped by adding a Stop Solution and the absorbance is measured at 450 nm.

3. KIT CONTENTS

The kit contains reagents for 96 determinations.

3.1 Anti-S100B - coated strips: ready to use reagent

1 x 96 microtiter wells coated with 2 monoclonal mouse anti-S100B antibodies. Contains BSA. Allow strips and holder to equilibrate to room temperature (20-25°C) in the foil pouch to protect wells from condensation. Once opened, reseal to assure proper closure in a desiccated environment.

NOTE: When the pouch containing strips is first opened, the desiccant indicator **MUST** be blue. If indication is not blue, do not use the strips.

3.2 HRP- conjugate: ready to use reagent

1 x 21 mL, blue-green liquid. Contains a monoclonal mouse anti-S100B antibody conjugated with HRP, BSA and 0.5% ProClin 300 as preservative.

3.3 Calibrators: lyophilized reagent

2 vials of each 6 calibrators. Reconstitute in 1.0 mL purified water. Calibrators consist of S100 bovine antigen. Calibrator S100 value is listed on the vial labels.

3.4 Controls: lyophilized reagent

2 vials of each 2 controls, Reconstitute in 1.0 mL purified water. Controls consist of S100 bovine antigen. The range of concentrations of each control is reported on the certificate of analysis and indicates the limits established by DiaSorin for control values that can be obtained in reliable assay runs.

3.5 Sample Diluent: ready to use reagent

1 x 10 mL, ready for use, colorless liquid. Contains 0.5% ProClin 300 as preservative.

3.6 Wash Buffer 10X: liquid solution

2 x 50 mL, a PBS-Tween concentrate. The 1X Wash Buffer is stable when stored at room temperature (20-25°C) for 5 days. **NOTE:** Do not use if buffer is turbid.

3.7 TMB Solution: ready to use reagent

1 x 16 mL, Buffered substrate and chromogen, colorless, 0.05% TMB (3,3', 5,5' Tetramethylbenzidine). Protect from light. **NOTE:** Do not use if blue precipitate is present.

3.8 Stop Solution: ready to use reagent

1 x 20 mL, colorless liquid. Contains 0.4N Sulfuric Acid. See Warnings and Precautions section.

4. SHELF LIFE AND STORAGE OF THE KIT

The kit is stable at 2-8°C until expiry date on the label. After opening, store all reagents at 2-8°C until expiration date on the label, except for calibrators and controls that can be frozen at -20°C, thawed and reused once. Do not use the kit after the expiry date.

5. WARNINGS AND PRECAUTIONS

This product is intended FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY.

Reagents Containing 3,3',5,5' Tetramethylbenzidine

Chromogen: This product contains 3,3',5,5' Tetramethylbenzidine (TMB) (0.05%) which has shown possible mutagenic effects in laboratory experiments.

6. TRACEABILITY OF STANDARDS AND CONTROLS

The calibrators and controls of the kit consist of S100B protein. This S100B protein originates from purified and well-characterized bovine brain material. Calibrators and Controls are calibrated against in-house reference S100B material.

7. MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Precision pipettes for 50, 100 and 150 μ L.
- Vortex mixer.
- Purified water.
- Plate Shaker: 800 rpm, amplitude 1.5 mm.
- Microplate washing device.
- Microplate ELISA Reader 450 nm reading capability.
- Calculation of results: Cubic Spline algorithm.

8. SPECIMEN COLLECTION, PREPARATION AND STORAGE

- Serum is recommended. Do not use EDTA- or sodium citrate plasma.
- Collect samples using standard procedures.
- During blood collection ensure that the sample is not contaminated with EDTA or sodium citrate. The blood should be processed and serum/plasma collected within 2–4 hr.
- Storage of serum samples at 2–8°C: 24 hours. For longer storage freeze to below –20°C. Samples are stable at –20°C for 6 months. Frozen sera must be gently but thoroughly mixed after thawing. Avoid repeated freeze-thaw cycles.
- Do not use samples, which are grossly lipemic or contaminated. Samples containing precipitates must be centrifuged before testing. Do not use heat-inactivated samples.
- High S100B samples (>5 μ g/L) can be diluted. S100 ELISA diluent should be used for dilution.

9. PREPARATION OF REAGENTS BEFORE USE

- Allow unopened reagents and samples to reach room temperature (20-25°C) before use.
- Calibrators: Reconstitute in 1.0 mL purified water. Let stand 20 minutes. Mix carefully.
- Controls: Reconstitute in 1.0 mL purified water. Let stand 20 minutes. Mix carefully.
- 10x Wash Buffer: Dilute 1:10 (1x Wash Buffer) with purified water.

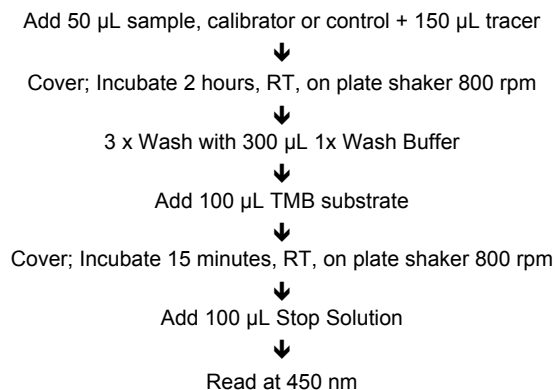
10. STORAGE OF REAGENTS AFTER USE

- Reconstituted calibrators and controls are stable for 90 min at room temperature. If all of the calibrators and controls are not used immediately, they can be frozen at -20°C , thawed and reused once.
- All the other opened components should be stored at $2 - 8^{\circ}\text{C}$ in the original containers.
- The TMB substrate and stop solution, which are taken out of the original vials, **must be discarded**.
- Fresh 1x Wash Buffer should be prepared at least once every 5 days.

11. ASSAY PROCEDURE

- 11.1 Prepare all the reagents as described in the previous section. Mix the samples on a Vortex before pipetting. **Note:** The test must be started within 90 minutes of the reconstitution of the calibrators and controls.
- 11.2 Pipette 50 μ L of calibrators, controls and unknown samples into the wells.
- 11.3 Add 150 μ L conjugate to all wells.
- 11.4 Cover the plate and incubate for 2 hours on a plate shaker (800 rpm) at room temperature (RT).
- 11.5 Wash 3 times with 300 μ L of 1x Wash Buffer. **Note:** It may be necessary to decant sample and conjugate from plate manually prior to wash step if an automated plate washing system is used.
- 11.6 Add 100 μ L TMB substrate to all wells.
- 11.7 Cover the plate and incubate 15 ± 2 minutes on a plate shaker (800 rpm) at room temperature.
- 11.8 Stop the reaction by adding 100 μ L Stop Solution. Add the Stop Solution in the same order and speed, which was used for the TMB substrate.
- 11.9 Read the absorbance at 450 nm using a microplate reader within 15 minutes.

12. FLOW DIAGRAM OF ASSAY



13. QUALITY CONTROL

Each laboratory must include at least one high and one low control in every assay to monitor assay performance. The controls provided with the kit may be utilized for this purpose. The kit controls contain S100B protein at both high and low concentrations and have been assayed using the DiaSorin S100B kit to establish expected ranges. The range of concentrations of each control is reported on the certificate of analysis and indicates the limits established by DiaSorin for control values that can be obtained in reliable assay runs. The controls should be treated as unknown samples and assayed in duplicate. Assays should be considered valid only if results meet the laboratories criteria for acceptability.

14. CALCULATION OF RESULTS

Interpretation of Results

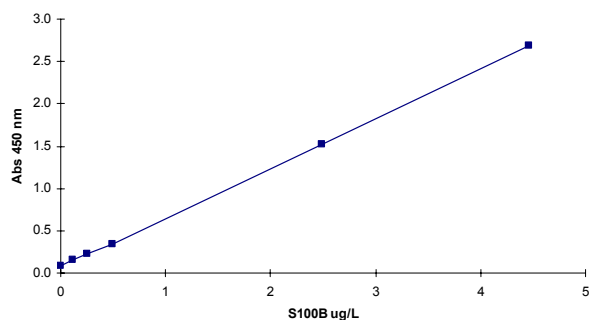
The Cubic Spline algorithm should be used for calculation of results. When using a Microplate Reader with automatic data calculation refer to the users manual of the instrument.

This is an example only and should not be used in calculations.

Sample	ABS 450 nm	µg/L
CAL A	0.087	0.00
CAL B	0.154	0.12
CAL C	0.221	0.25
CAL D	0.339	0.49
CAL E	1.516	2.49
CAL F	2.692	4.46
CONTROL L	0.420	0.62
CONTROL H	1.113	1.65
Sample 1	0.109	0.40
Sample 2	0.389	0.59
Sample 3	1.223	2.03

Standard Curve

This is an example only and should not be used in calculations.



15. SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Reference Range

Cut-off was determined to 0.15 µg/L (the 95%-ile of 100 blood donor samples). Each laboratory should, however, establish its own upper reference limit.

Accuracy

The accuracy of the results of this assay is directly related to the degree of care exercised during pipetting, vortexing, aspiration, and adherence to methodology and temperature requirements.

Measuring Range

The measuring range is up to 5 µg/L. Concentrations for high samples can be obtained by diluting with S100 ELISA Diluent and repeating the assay.

Precision

Serum samples at different concentration levels were evaluated running one assay per day over ten operating days. Intra-assay and Inter-Assay precision was estimated by analysis of variance (ANOVA). Within the range of concentrations from 0.18 to 4 µg/L, the within run imprecision is < 10% and the total imprecision is < 15%.

Sample µg/L	Intra-assay variation (CV%)	Inter-assay variation (CV%)
0.18	9.4	7.2
0.27	6.6	12.4
0.61	3.8	4.7
1.9	4.4	3.1
2.2	1.9	4.3
4.1	2.9	3.5

Sensitivity (LDL)

The detection limit is 0.03 µg/L (B0+ 3SD).

Dilution Linearity

Dilution linearity was assessed by diluting three clinical samples with S100B Sample Diluent and assaying. Dilution linearity demonstrates a functional assay range from 0.2 µg/L to 4.5 µg/L.

Sample	Dilution	Calculate Value (µg/L)	Recovery %
1	1:1	2.94	100
	1:2	3.03	103
	1:5	3.68	125
	1:10	3.29	112
2	1:1	3.08	100
	1:2	3.49	113
	1:5	3.80	123
	1:10	4.16	135
3	1:1	3.77	100
	1:2	3.76	100
	1:5	3.81	101
	1:10	3.74	99

Compounds and Cross-Reactivity

There were no significant differences observed in S100B concentration levels after the addition of heparin, heparin/protamine or propofol compared to the control at the concentrations tested.

Compounds Tested for Potential Interference

Drug Tested	Conc. Tested
Heparin	5 IU/mL
Heparin/Protamine	100 IU/mL/10 mg/mL
Propofol	80 µg/mL

Gao, F, Harris, DNF, Sapsed-Byrne, S. Publication Perfusion 1997; 12:163-165

Potential interfering endogenous substances were added at the following final concentrations: bilirubin, 0.125 µg/mL; triglycerides, 12.5 mg/mL; hemoglobin 1, 2.5 and 5 mg/mL. Each test samples was assayed in duplicate. Elevated hemoglobin may affect sample results.

Interference by Endogenous Substances

Potential Interferent	Conc. Tested	Mean Control Value	Mean Test Value	Difference	% Error
Bilirubin	125 µg/mL	0.083	0.090	0.007	8%
Triglycerides	12.5 mg/mL	0.084	0.083	0.001	2%
Hemoglobin	1 mg/mL	0.087	0.091	0.004	5%
	2.5 mg/mL	0.087	0.097	0.010	11%
	5 mg/mL	0.087	0.092	0.005	6%

16. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

High-Dose Hook

No high-dose hook effect is seen up to 3000 µg/L.

1. INDICATION

Ce produit est à USAGE DIAGNOSTIQUE *IN VITRO*.

Immunoessai pour la détermination quantitative in vitro de l'antigène S100 dans le sérum humain. S100 est destiné à être utilisé pour contribuer à la prise en charge des patients atteints de mélanome malin.

2. PRINCIPE DU DOSAGE

La trousse S100 ELISA est un dosage immuno-absorbant à deux sites, une seule étape et qui est lié à un enzyme. Dans ce dosage, les étalons, les contrôles et les échantillons à doser réagissent simultanément avec 2 anticorps de capture en phase solide et un anticorps de détection conjugué à de la peroxydase de raifort (HRP) au cours de l'incubation dans les puits micro-titrés. Après la phase de lavage, un chromogène TMB (Tétraméthylbenzidine) est ajouté et la réaction peut alors se poursuivre pendant 15 minutes. La réaction enzymatique est bloquée par l'ajout de solution d'arrêt et l'absorbance est mesurée à 450 nm.

3. CONTENU DE LA TROUSSE

La trousse contient des réactifs suffisants pour 96 déterminations.

3.1 Bandes coatées à l'anti-S100B : réactif prêt à l'emploi

1 x 96 puits micro-titrés coatés aux 2 anticorps monoclonaux anti-S100B de souris. Contient de la BSA. Laisser les bandes et leur support s'adapter à la température ambiante (20 à 25°C) dans le sachet en aluminium afin de protéger les puits de la condensation. Une fois ouvert, refermer hermétiquement le sachet pour garantir une fermeture adéquate dans un environnement déshydraté.

REMARQUE : lors de la première ouverture du sachet contenant les bandes, l'indicateur du déshydratant DOIT être bleu. Si l'indication n'est pas bleue, ne pas utiliser les bandes.

3.2 Conjugué HRP : réactif prêt à l'emploi

1 x 21 mL, liquide bleu-vert. Contient un anticorps monoclonal anti-S100B de souris conjugué à de la HRP, de la BSA et 0,5% de ProClin 300 comme conservateur.

3.3 Etalons : réactif lyophilisé

2 flacons de chacun des 6 étalons. Reconstituer dans 1,0 mL d'eau purifiée. Les étalons sont constitués d'antigène bovin S100. La valeur de l'étalon S100 est indiquée sur les étiquettes des flacons.

3.4 Contrôles : réactif lyophilisé

2 flacons de chacun des 2 contrôles. Reconstituer avec 1,0 mL d'eau purifiée. Les contrôles sont constitués d'antigène bovin S100. L'intervalle des concentrations pour chaque contrôle est imprimé sur le certificat d'analyses et indique les limites définies par DiaSorin pour les valeurs des contrôles obtenues par des tests fiables.

3.5 Diluant d'échantillon : réactif prêt à l'emploi

1 x 10 mL, prêt à l'emploi, liquide incolore. Contient 0,5% de ProClin 300 comme conservateur.

3.6 Tampon de lavage (10X) : solution liquide

2 x 50 mL, concentré PBS-Tween. Le tampon de lavage 1X est stable quand il est conservé à température ambiante (20-25°C) pendant 5 jours. **REMARQUE** : ne pas utiliser le tampon s'il est trouble.

3.7 Solution TMB : réactif prêt à l'emploi

1 x 16 mL, substrat tamponné et chromogène, incolore, 0,05% TMB (3,3', 5,5' Tétraméthylbenzidine). Le protéger de la lumière. **REMARQUE** : ne pas l'utiliser en cas de précipité bleu.

3.8 Solution d'arrêt : réactif prêt à l'emploi

1 x 20 mL, liquide incolore. Contient de l'acide sulfurique 0,4N. Voir la section Avertissements et précautions.

4. DUREE DE CONSERVATION ET CONSERVATION DE LA TROUSSE

La trousse est stable à 2-8°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Après l'ouverture, conserver tous les réactifs à 2-8°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, hormis les étalons et contrôles qui peuvent être congelés à -20°C, décongelés et réutilisés une fois. Ne pas utiliser la trousse au-delà de la date de péremption.

5. AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS

Ce produit est à **USAGE DIAGNOSTIQUE *IN VITRO***.

Réactifs contenant du Tétraméthylbenzidine 3,3',5,5'

Chromogène : ce produit contient du Tétraméthylbenzidine 3,3',5,5' (TMB) (0,05%) qui peut avoir un effet mutagène dans les essais en laboratoire.

6. TRACABILITE DES ETALONS ET CONTROLES

Les étalons et contrôles de la trousse sont constitués de protéine S100B. Cette protéine S100B est tirée de substance de cerveau bovin purifiée et bien caractérisée. Les étalons et les contrôles ont été étalonnés en utilisant le produit S100B de référence de notre laboratoire.

7. MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Pipettes de précision pour 50, 100 et 150 µL.
- Agitateur-mélangeur vortex.
- Eau purifiée.
- Agitateur de plaques : 800 tr/min, amplitude 1,5 mm.
- Système de lavage des micro-plaques.
- Lecteur de micro-plaques ELISA d'une capacité de lecture à 450 nm.
- Calcul des résultats : algorithme spline cubique.

8. PRELEVEMENT, PREPARATION ET CONSERVATION

- Le sérum est recommandé. Ne pas utiliser de plasma sur EDTA ou de plasma sur citrate de sodium.
- Prélevez les échantillons conformément aux procédures standards.
- Lors du prélèvement du sang, s'assurer que l'échantillon n'est pas contaminé par de l'EDTA ou du citrate de sodium. Le sang doit être traité et le sérum/plasma prélevé dans les 2-4 heures.
- Conservation des échantillons de sérum à 2-8°C : 24 heures. Pour une période de conservation plus longue, congeler à -20°C. Les échantillons sont stables pendant 6 mois à -20°C. Les sérums congelés doivent être soigneusement mélangés après la décongélation. Eviter de répéter les cycles de congélation et décongélation.
- Ne pas utiliser d'échantillons fortement lipémiques ou contaminés. Les échantillons contenant des précipités doivent être centrifugés avant le dosage. Ne pas utiliser d'échantillons inactivés par la chaleur.
- Les échantillons à teneur élevée en S100B (>5 µg/L) peuvent être dilués. Utiliser le diluant S100 ELISA pour la dilution.

9. PREPARATION DES REACTIFS AVANT L'UTILISATION

- Avant l'utilisation, laisser les réactifs et les échantillons atteindre la température ambiante (20-25°C) dans le flacon fermé.
- Etalons : reconstituer dans 1,0 mL d'eau purifiée. Laisser reposer pendant 20 minutes. Mélanger soigneusement.
- Contrôles : reconstituer dans 1,0 mL d'eau purifiée. Laisser reposer pendant 20 minutes. Mélanger soigneusement.
- 10x tampon de lavage : diluer au 1:10 (1x tampon de lavage) avec de l'eau purifiée.

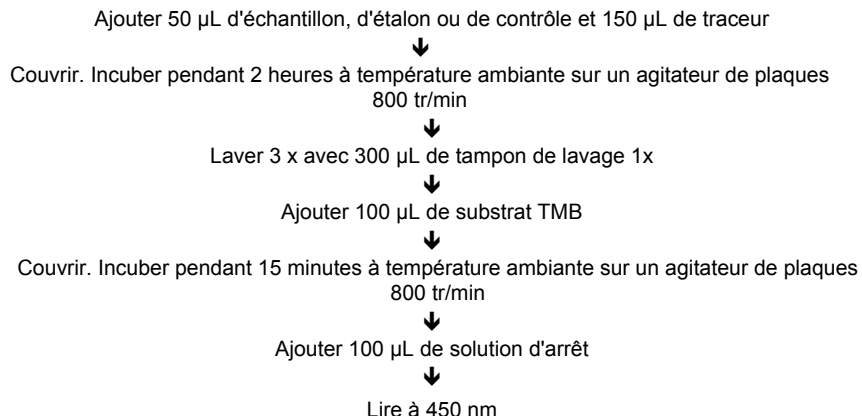
10. CONSERVATION DES REACTIFS APRES L'UTILISATION

- Les étalons et les contrôles reconstitués sont stables pendant 90 min à température ambiante. Si tous les étalons et contrôles ne sont pas utilisés immédiatement, ils peuvent être congelés à – 20°C, décongelés puis utilisés une fois.
- Tous les autres composants ouverts doivent être conservés à 2 – 8°C dans leur emballage d'origine.
- Le substrat TMB et la solution d'arrêt qui ont été retirés de leur flacon d'origine doivent être éliminés. e 1x frais doit être préparé au moins tous les 5 jours.

11. PROCEDURE DU DOSAGE

- 11.1 Préparer tous les réactifs selon les instructions données au paragraphe précédent. Agiter les échantillons sur le Vortex avant de les pipeter. Remarque : le dosage doit être commencé dans les 90 minutes qui suivent la reconstitution des étalons et des contrôles.
- 11.2 Pipeter 50 µL des étalons, des contrôles et des échantillons à doser dans les puits.
- 11.3 Ajouter 150 µL de conjugué dans tous les puits.
- 11.4 Couvrir la plaque et laisser incubé pendant 2 heures sur un agitateur de plaques (800 tr/min) à température ambiante.
- 11.5 Laver 3 fois avec 300 µL de tampon de lavage 1x. Remarque : si l'on utilise un système de lavage automatique de la plaque, il peut s'avérer nécessaire de décanner manuellement l'échantillon et le conjugué de la plaque avant d'entamer la phase de lavage.
- 11.6 Ajouter 100 µL de substrat TMB dans chaque puits.
- 11.7 Couvrir la plaque et incubé pendant 15 ± 2 minutes sur un agitateur de plaques (800 tr/min) à température ambiante.
- 11.8 Bloquer la réaction en ajoutant 100 µL de solution d'arrêt. Ajouter la solution d'arrêt dans le même ordre et à la même vitesse que le substrat TMB.
- 11.9 Lire l'absorbance à 450 nm à l'aide d'un lecteur de micro-plaques dans les 15 minutes qui suivent.

12. ORGANIGRAMME



13. CONTROLE DE QUALITE

Chaque laboratoire doit inclure au moins un contrôle de haut niveau et un contrôle de bas niveau à chaque dosage pour surveiller la précision du dosage. Les contrôles fournis avec la trousse peuvent être utilisés à cette fin. Les contrôles de la trousse contiennent de la protéine S100B à des concentrations élevées et des concentrations faibles et ont été dosés en utilisant la trousse DiaSorin S100B pour définir la plage de valeurs attendues. L'intervalle des concentrations pour chaque contrôle est imprimé sur le certificat d'analyses et indique les limites définies par DiaSorin pour les valeurs des contrôles obtenues par des tests fiables. Les contrôles doivent être traités comme des échantillons inconnus et dosés en doublet. Les dosages doivent être considérés valables uniquement si les résultats satisfont les critères d'acceptabilité des laboratoires.

14. CALCUL DES RÉSULTATS

Interprétation des résultats

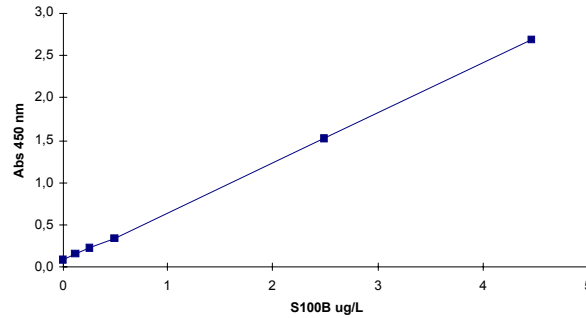
Utiliser l'algorithme spline cubique pour le calcul des résultats. Si l'on utilise un lecteur de micro-plaques qui prévoit le calcul automatique des données, consulter le guide de l'utilisateur de l'instrument.

Ceci n'est qu'un exemple et ne doit pas être utilisé dans les calculs.

Échantillon	ABS 450 nm	µg/L
ETA A	0,087	0,00
ETA B	0,154	0,12
ETA C	0,221	0,25
ETA D	0,339	0,49
ETA E	1,516	2,49
ETA F	2,692	4,46
CONTROLE L	0,420	0,62
CONTROLE H	1,113	1,65
ÉCHANTILLON 1	0,109	0,40
ÉCHANTILLON 2	0,389	0,59
ÉCHANTILLON 3	1,223	2,03

Courbe standard

Ceci n'est qu'un exemple et ne doit pas être utilisé dans les calculs.



15. CARACTÉRISTIQUES SPÉCIFIQUES DE PERFORMANCE

Intervalle de référence

Le seuil a été déterminé à 0,15 µg/L (95 percentile dans 100 échantillons de donneurs de sang). Chaque laboratoire doit toutefois établir sa propre limite supérieure de référence.

Exactitude

L'exactitude des résultats de ce dosage est directement liée au degré de soin apporté au cours du pipetage, du passage dans le vortex, de l'aspiration et au respect de la méthodologie et de la température.

Plage de mesure

La plage de mesure atteint 5 µg/L. Les concentrations pour les échantillons élevés peuvent être obtenues par dilution avec le diluant S100 ELISA et en répétant le dosage.

Précision

Les échantillons de sérum à différents niveaux de concentration ont été évalués en exécutant un dosage par jour pendant dix jours de travail. La précision intra-essai et inter-essai a été estimée par une analyse de variance (ANOVA). Dans une plage de concentration de 0,18 à 4 µg/L, l'imprécision dans le dosage est < 10% et l'imprécision totale est < 15%.

Échantillon µg/L	Variation intra-essai (CV%)	Variation inter-essai (CV%)
0,18	9,4	7,2
0,27	6,6	12,4
0,61	3,8	4,7
1,9	4,4	3,1
2,2	1,9	4,3
4,1	2,9	3,5

Sensibilité (LDL)

La limite de détection est de 0,03 µg/L (B0+ 3SD).

Linéarité de la dilution

La linéarité de la dilution a été évaluée en diluant trois échantillons cliniques à l'aide du diluant d'échantillon S100B et en effectuant le dosage. La linéarité de la dilution montre une plage de dosage fonctionnelle allant de 0,2 µg/L à 4,5 µg/L.

Échantillon	Dilution	Calculer la valeur (µg/L)	Récupération %
1	1:1	2,94	100
	1:2	3,03	103
	1:5	3,68	125
	1:10	3,29	112
2	1:1	3,08	100
	1:2	3,49	113
	1:5	3,80	123
	1:10	4,16	135
3	1:1	3,77	100
	1:2	3,76	100
	1:5	3,81	101
	1:10	3,74	99

Composants et réactivité croisée

Aucune différence significative n'a été observée dans le taux de concentration de S100B après l'ajout d'héparine, d'héparine/protamine ou de propofol par rapport au contrôle à la concentration testée.

Composants testés afin de déterminer les interférences potentielles

Produit testé	Concentration testée
Héparine	5 IU/mL
Héparine/Protamine	100 IU/mL/10 mg/mL
Propofol	80 µg/mL

Gao, F, Harris, DNF, Sapsed-Byrne, S. Publication Perfusion 1997; 12:163-165

Les substances endogènes présentant une interférence potentielle ont été ajoutées aux concentrations finales suivantes : bilirubine, 0,125 µg/mL ; triglycérides, 12,5 mg/mL ; hémoglobine 1, 2,5 et 5 mg/mL. Chaque échantillon a été dosé en double. De fortes concentrations d'hémoglobine sont susceptibles d'affecter les résultats de l'échantillon.

Interférences des substances endogènes

Substance interférente potentielle	Conc. testée	Valeur de contrôle moyenne	Valeur de test moyenne	Différence	% Erreur
Bilirubine	125 µg/mL	0,083	0,090	0,007	8%
Triglycérides	125 µg./mL	0,084	0,083	0,001	2%
Hémoglobine	1 mg/mL	0,087	0,091	0,004	5%
	2,5 mg/mL	0,087	0,097	0,010	11%
	5 mg/mL	0,087	0,092	0,005	6%

16. LIMITES DU DOSAGE

Infléchissement pour des doses élevées

Aucun effet d'infléchissement n'est observé jusqu'à 3000 µg/L.

1. VERWENDUNGSZWECK

Dieses Produkt ist NUR ZUR *IN-VITRO*-DIAGNOSTIK BESTIMMT.

Immunassay zur quantitativen In-vitro-Bestimmung von S100 in Humanserum. S100 ist zur Versorgung von Patienten mit malignen Melanomen vorgesehen.

2. TESTPRINZIP

Der S100 ELISA ist ein einstufiger, enzymgekoppelter Two-site-Immunsorbens-Assay (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). In dem Assay reagieren Kalibratoren, Kontrollen und unbekannte Proben während der Inkubation in den Mikrotiter-Wells gleichzeitig mit 2 Festphasen-Beschichtungsantikörpern und einem mit Meerettich-Peroxidase (Horseradish peroxidase, HRP) konjugierten Detektorantikörper. Nach einem Spülschritt wird ein TMB-Chromogen (Tetramethylbenzidin) hinzugegeben, und die Reaktion wird 15 Minuten lang fortgesetzt. Die Enzymreaktion wird durch Zugabe einer Stopplösung gestoppt, und der Absorptionswert wird bei 450 nm gemessen.

3. KIT-INHALT

Das Kit enthält Reagenzien für 96 Bestimmungen.

3.1 Anti-S100B-beschichtete Streifen: gebrauchsfertiges Reagenz

1 x 96 mit 2 monoklonalen Maus-anti-S-100B-Antikörpern beschichtete Mikrotiter-Wells. Enthält BSA. Alle Mikrotiterstreifen und den Halter im Folienbeutel auf Raumtemperatur (20-25°C) bringen, um die Wells vor Kondensation zu schützen. Geöffnete Beutel wieder versiegeln, um einen richtigen Verschluss in einer dehydrierten Umgebung sicherzustellen.

HINWEIS: Beim ersten Öffnen des Beutels mit den Mikrotiterstreifen MUSS der Dehydrierungsindikator blau sein. Wenn der Indikator nicht blau ist, die Streifen nicht verwenden.

3.2 HRP-Konjugat: gebrauchsfertiges Reagenz

1 x 21 mL, blau-grüne Flüssigkeit. Enthält einen monoklonalen, mit HRP, BSA und 0,5% ProClin 300 als Konservierungsmittel konjugierten Maus-anti-S-100B-Antikörper.

3.3 Kalibratoren: lyophilisiertes Reagenz

2 Fläschchen mit jeweils 6 Kalibratoren. In 1,0 mL destilliertem Wasser rekonstituieren. Die Kalibratoren bestehen aus bovinem S100-Antigen. Der S100-Wert des Kalibrators ist auf den Fläschchenetiketten aufgeführt.

3.4 Kontrollen: lyophilisiertes Reagenz

2 Fläschchen mit jeweils 2 Kontrollen. In 1,0 mL destilliertem Wasser rekonstituieren. Die Kontrollen bestehen aus bovinem S100-Antigen. Der Konzentrationsbereich jeder Kontrolle ist auf dem Analysezertifikat aufgedruckt und zeigt die von DiaSorin festgestellten Grenzen für Kontrollwerte, die mit zuverlässigen Tests erhalten werden.

3.5 Proben-Diluent: gebrauchsfertiges Reagenz

1 x 10 mL, gebrauchsfertige, farblose Flüssigkeit. Enthält 0,5% ProClin 300 als Konservierungsmittel.

3.6 Waschpuffer (10X): flüssige Lösung

2 x 50 mL, PBS-Tween-Konzentrat. Der 1X Waschpuffer ist bei Raumtemperatur (20-25°C) 5 Tage lang stabil. **HINWEIS:** Nicht verwenden, wenn der Puffer trübe ist.

3.7 TMB-Lösung: gebrauchsfertiges Reagenz

1 x 16 mL, gepuffertes Substrat und Chromogen, farblos, 0,05% TMB (3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidin). Vor Licht schützen. **HINWEIS:** Nicht verwenden, wenn ein blauer Niederschlag vorhanden ist.

3.8 Stopplösung: gebrauchsfertiges Reagenz

1 x 20 mL, farblose Flüssigkeit. Enthält 0,4N Schwefelsäure. Siehe den Abschnitt "Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen".

4. HALTBARKEIT UND LAGERUNG DES KITS

Das Kit ist bei 2-8°C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil. Nach dem Öffnen alle Reagenzien bei 2-8°C nicht länger als bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum lagern, mit Ausnahme der Kalibratoren und Kontrollen, die bei -20°C eingefroren, aufgetaut und einmal wieder verwendet werden können. Das Kit nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.

5. WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Dieses Produkt ist NUR ZUR *IN-VITRO*-DIAGNOSTIK BESTIMMT.

Reagenzien mit 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin

Chromogen: Dieses Produkt enthält 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) (0,05%), das bei Laborexperimenten mögliche mutagene Wirkungen gezeigt hat.

6. VERFOLGBARKEIT VON STANDARDS UND KONTROLLEN

Die Kalibratoren und Kontrollen des Kits bestehen aus S100B-Protein. Dieses S100B-Protein stammt aus gereinigtem und gut charakterisiertem bovinem Hirnmaterial. Die Kalibratoren und Kontrollen werden gegen unternehmenseigenes Referenz-S100B-Material kalibriert.

7. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE MATERIALIEN

- Präzisionspipetten für 50, 100 und 150 µL
- Vortex-Mixer
- Destilliertes Wasser
- Plattenschüttler: 800 U/min, Amplitude 1,5 mm
- Mikroplatten-Spülvorrichtung
- Mikroplatten-ELISA-Leser mit einer Lesefähigkeit von 450 nm
- Ergebnisberechnung: Cubic Spline-Algorithmus

8. PROBENGEWINNUNG, -VORBEREITUNG UND -LAGERUNG

- Serum wird empfohlen. Kein EDTA- oder Natriumcitrat-Plasma verwenden.
- Proben mittels Standardverfahren gewinnen.
- Während der Blutgewinnung sicherstellen, dass die Probe nicht mit EDTA oder Natriumcitrat kontaminiert ist. Die Blutverarbeitung und die Serum- bzw. Plasmagewinnung sollten innerhalb von 2-4 Stunden erfolgen.
- Lagerung der Serumproben bei 2-8°C: 24 Stunden. Zur längeren Lagerung die Proben auf Temperaturen von unter -20°C einfrieren. Die Proben sind bei -20°C 6 Monate lang stabil. Gefrorene Seren müssen nach dem Auftauen vorsichtig, jedoch gründlich gemischt werden. Wiederholte Gefrier-Auftau-Zyklen vermeiden.
- Keine stark lipämischen oder kontaminierten Proben verwenden. Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden. Keine durch Hitze deaktivierten Proben verwenden.
- Proben mit einem hohen S100B-Gehalt (>5 µg/L) können verdünnt werden. Zur Verdünnung sollte das S100 ELISA-Diluent verwendet werden.

9. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN VOR GEBRAUCH

- Ungeöffnete Reagenzien und Proben vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20-25°C) bringen
- Kalibratoren: In 1,0 mL destilliertem Wasser rekonstituieren, 20 Minuten stehen lassen und vorsichtig mischen
- Kontrollen: In 1,0 mL destilliertem Wasser rekonstituieren, 20 Minuten stehen lassen und vorsichtig mischen
- 10x Waschpuffer: 1:10 (1x Waschpuffer) mit destilliertem Wasser verdünnen

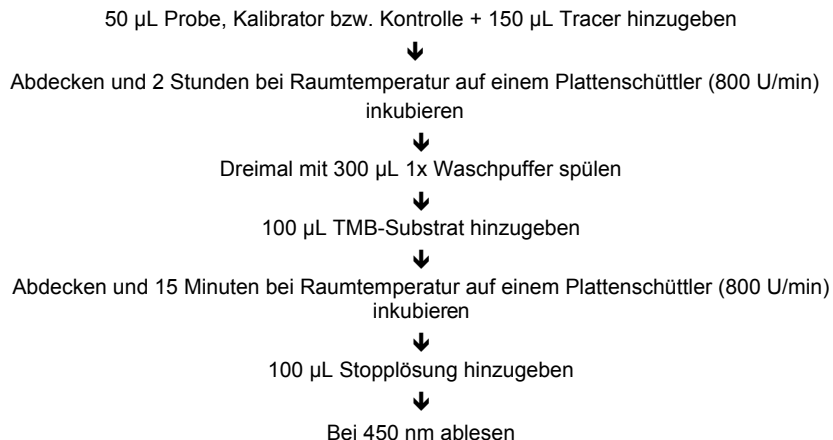
10. LAGERUNG DER REAGENZIEN VOR GEBRAUCH

- Rekonstituierte Kalibratoren und Kontrollen sind bei Raumtemperatur 90 Minuten lang stabil. Wenn nicht alle Kalibratoren und Kontrollen sofort verwendet werden, können sie bei -20°C eingefroren, aufgetaut und einmal wieder verwendet werden.
- Alle anderen geöffneten Komponenten sollten bei 2-8°C in ihren Originalbehältern gelagert werden.
- Das TMB-Substrat und die Stopplösung, die aus den Originalfläschchen entnommen werden, **müssen entsorgt werden**.
- Frischer 1x Waschpuffer sollte mindestens alle 5 Tage zubereitet werden.

11. TESTVERFAHREN

- 11.1 Alle Reagenzien zubereiten, wie im vorigen Abschnitt beschrieben. Die Proben vor dem Pipettieren auf einem Vortexer mischen. **Hinweis:** Der Test muss innerhalb von 90 Minuten nach der Rekonstitution der Kalibratoren und Kontrollen gestartet werden.
- 11.2 50 µL der Kalibratoren, Kontrollen und unbekannten Proben in die Wells pipettieren.
- 11.3 150 µL Konjugat in alle Wells geben.
- 11.4 Die Platte abdecken und 2 Stunden auf einem Plattenschüttler (800 U/min) bei Raumtemperatur (RT) inkubieren.
- 11.5 Dreimal mit 300 µL 1x Waschpuffer spülen. **Hinweis:** Wenn ein automatisches Plattenspülsystem verwendet wird, müssen Probe und Konjugat möglicherweise vor dem Spülschritt manuell von der Platte dekantiert werden.
- 11.6 100 µL TMB-Substrat in alle Wells geben.
- 11.7 Die Platte abdecken und 15 ± 2 Minuten auf einem Plattenschüttler (800 U/min) bei Raumtemperatur inkubieren.
- 11.8 Die Reaktion durch Zugabe von 100 µL Stopplösung stoppen. Die Stopplösung in derselben Reihenfolge und genauso schnell hinzugeben wie das TMB-Substrat.
- 11.9 Den Absorptionswert innerhalb von 15 Minuten mit einem Mikroplattenleser bei 450 nm ablesen.

12. FLUSSDIAGRAMM DES TESTS



13. QUALITÄTSKONTROLLE

Jedes Labor muss in jedem Test mindestens eine hohe und eine niedrige Kontrolle einsetzen, um die Leistung des Kits zu überwachen. Dazu können die im Kit enthaltenen Kontrollen verwendet werden. Die Kontrollen dieses Kits enthalten S100B-Protein in hoher und niedriger Konzentration und wurden mit dem S100B-Kit von DiaSorin getestet, um die Sollbereiche zu bestimmen. Der Konzentrationsbereich jeder Kontrolle ist auf dem Analysezertifikat aufgedruckt und zeigt die von DiaSorin festgestellten Grenzen für Kontrollwerte, die mit zuverlässigen Tests erhalten werden. Die Kontrollen sollten als unbekannte Proben behandelt und doppelt getestet werden. Die Testergebnisse können erst als gültig betrachtet werden, wenn sie den Akzeptabilitätskriterien des Labors entsprechen.

14. ERGEBNISBERECHNUNG

Interpretation der Ergebnisse

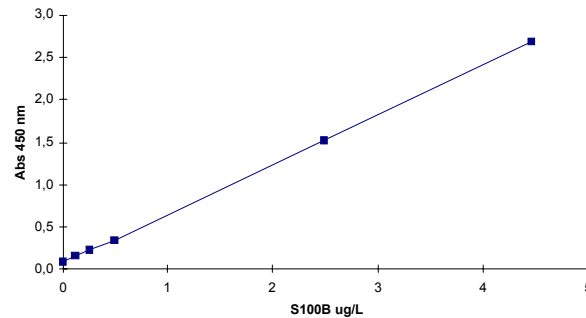
Zur Ergebnisberechnung sollte der Cubic Spline-Algorithmus verwendet werden. Bei Verwendung eines Mikroplattenlesers mit automatischer Datenberechnung ist das Bedienungshandbuch des jeweiligen Instruments zu beachten.

Dies ist nur ein Beispiel, das nicht für Berechnungen verwendet werden darf.

Probe	ABS 450 nm	µg/L
KAL. A	0,087	0,00
KAL. B	0,154	0,12
KAL. C	0,221	0,25
KAL. D	0,339	0,49
KAL. E	1,516	2,49
KAL. F	2,692	4,46
KONTROLLE L	0,420	0,62
KONTROLLE H	1,113	1,65
PROBE 1	0,109	0,40
PROBE 2	0,389	0,59
PROBE 3	1,223	2,03

Standardkurve

Dies ist nur ein Beispiel, das nicht für Berechnungen verwendet werden darf.



15. TESTCHARAKTERISTIKA

Referenzbereich

Als Cut-off-Wert wurde ein Wert von 0,15 µg/L bestimmt (die 95%-ile von 100 Blutspenderproben). Jedes Labor sollte jedoch seinen eigenen oberen Referenzgrenzwert ermitteln.

Genauigkeit

Die Genauigkeit der Ergebnisse dieses Assays hängt direkt von dem Ausmaß der beim Pipettieren, Vortexen und Aspirieren angewendeten Sorgfalt sowie der Einhaltung von Verfahrens- und Temperaturanforderungen ab.

Messbereich

Der Messbereich beträgt bis zu 5 µg/L. Konzentrationen für Proben mit hohen Werten können durch Verdünnung mit S100 ELISA-Diluent und Wiederholung des Tests erhalten werden.

Genauigkeit

Die Serumproben bei verschiedenen Konzentrationsspiegeln wurden ermittelt, indem zehn Tage lang ein Test pro Tag durchgeführt wurde. Die Intra-Assay- und die Inter-Assay-Präzision wurden durch Varianzanalyse (ANOVA) geschätzt. Bei Konzentrationen zwischen 0,18 und 4 µg/L ergab sich beim Durchlauf eine Abweichung von < 10% und ein Gesamtfehler von < 15%.

Probe µg/L	Intra-Testvarianz (VK %)	Inter-Testvarianz (VK %)
0,18	9,4	7,2
0,27	6,6	12,4
0,61	3,8	4,7
1,9	4,4	3,1
2,2	1,9	4,3
4,1	2,9	3,5

Empfindlichkeit (LDL)

Die Nachweisgrenze beträgt 0,03 µg/L (B0 + 3SD).

Verdünnungslinearität

Die Verdünnungslinearität wurde durch Verdünnung von drei klinischen Proben mit S100B-Probendiluent und anschließender Analyse geprüft. Aufgrund der Verdünnungslinearität ergibt sich für den Test ein Funktionsbereich zwischen 0,2 µg/L und 4,5 µg/L.

Probe	Verdünnung	Berechnungswert (µg/L)	Wiederfindung %
1	1:1	2,94	100
	1:2	3,03	103
	1:5	3,68	125
	1:10	3,29	112
2	1:1	3,08	100
	1:2	3,49	113
	1:5	3,80	123
	1:10	4,16	135
3	1:1	3,77	100
	1:2	3,76	100
	1:5	3,81	101
	1:10	3,74	99

Verbindungen und Kreuzreaktivität

Nach Zugabe von Heparin, Heparin/Protamin oder Propofol wurden für die S100B-Konzentrationspiegel keine bedeutenden Unterschiede gegenüber der Kontrolle bei den getesteten Konzentrationen beobachtet.

Auf mögliche Störungseigenschaften untersuchte Verbindungen

Getestetes Medikament	Getestete Konz.
Heparin	5 IU/mL
Heparin/Protamin	100 IU/mL/10 mg/mL
Propofol	80 µg/mL

Gao, F., Harris, DNF, Sapsed-Byrne, S., Publication Perfusion (1997); 12:163-165.

Potenzielle Störung endogener Substanzen, die mit folgenden Endkonzentrationen zugesetzt wurden: Bilirubin, 0,125 µg/mL; Triglyceride, 12,5 mg/mL; Hämoglobin, 1, 2,5 und 5 mg/mL. Jede Testprobe wurde in doppelter Ausführung analysiert. Höhere Hämoglobinanteile können die Probenergebnisse verfälschen.

Störungen durch endogene Substanzen

Potenzielle Störsubstanz	Getestete Konz.	Mittlerer Kontrollwert	Mittlerer Testwert	Differenz	% Fehler
Bilirubin	125 µg/mL	0,083	0,090	0,007	8%
Triglyceride	125 µg/mL	0,084	0,083	0,001	2%
Hämoglobin	1 mg/mL	0,087	0,091	0,004	5%
	2,5 mg/mL	0,087	0,097	0,010	11%
	5 mg/mL	0,087	0,092	0,005	6%

16. GRENZEN DES VERFAHRENS

High-dose-hook-Effekt

Für Konzentrationen von bis zu 3000 µg/L wird kein High-dose-hook-Effekt beobachtet.

1. USO INDICADO

Este producto está indicado ÚNICAMENTE PARA SU USO EN DIAGNÓSTICOS *IN VITRO*. Inmunoanálisis para la determinación cuantitativa *in vitro* de S100 en suero humano. S100 debe utilizarse como una ayuda para tratar a los pacientes con melanoma maligno.

2. PRINCIPIOS DEL ENSAYO

El equipo S100 para ELISA es un ensayo inmunoabsorbente ligado a la enzima, de dos variaciones sitio específicas y un solo paso. En los calibradores de ensayo, los controles y las muestras desconocidas reaccionan simultáneamente con 2 anticuerpos de captura de la fase sólida y un anticuerpo detector conjugado con peroxidasa de rábano silvestre (HRP) durante la incubación en los pocillos microtiter. Tras el paso de lavado se añade un cromógeno TMB (Tetrametilbencidina) dejándose actuar la reacción durante 15 minutos. Se detiene la reacción de la enzima añadiendo una solución de paro y se mide la absorbancia a 450 nm.

3. CONTENIDO DEL EQUIPO

El equipo contiene reactivos para 96 determinaciones.

3.1 Tiras recubiertas de Anti-S100B: reactivo listo para su uso

1 x 96 pocillos microtiter recubiertos de 2 anticuerpos monoclonales anti-S100B de ratón. Contiene BSA. Deje que las tiras y el soporte se equilibren a temperatura ambiente (20-25 °C) dentro de la bolsa de papel de aluminio para proteger los pocillos de la condensación. Una vez abierta la bolsa vuelva a sellarla en un ambiente desecado para garantizar un cierre correcto.

NOTA: La primera vez que se abre la bolsa que contiene las tiras, el indicador de desecado DEBE estar azul. Si el indicador no está azul, no utilice las tiras.

3.2 Conjugado HRP: reactivo listo para su uso

1 x 21 mL, líquido azul-verde. Contiene un anticuerpo monoclonal anti-S100B de ratón conjugado con HRP, BSA y 0,5% de ProClin 300 como conservante.

3.3 Calibradores: reactivo liofilizado

2 viales de 6 calibradores cada uno. Reconstituya con 1,0 mL de agua purificada. Los calibradores contienen antígeno de bovino S100. El valor del calibrador S100 se indica en la etiqueta del vial.

3.4 Controles: reactivo liofilizado

2 viales de cada 2 controles. Reconstituya con 1,0 mL de agua purificada. Los controles contienen antígeno de bovino S100. El intervalo de las concentraciones para cada control está impreso en el certificado de análisis e indica los límites definidos por DiaSorin para los valores de los controles obtenidos con test fiables.

3.5 Diluyente de muestras: reactivo listo para su uso

1 x 10 mL, líquido incoloro, listo para su uso. Contiene 0,5% de ProClin 300 como conservante.

3.6 Tampón de lavado 10X: solución líquida

2 x 50 mL, concentrado de PBS-Tween. El tampón de lavado 1X se mantiene estable durante 5 días si se almacena a temperatura ambiente (20-25 °C). **NOTA:** No lo utilice si el tampón está turbio.

3.7 Solución TMB: reactivo listo para su uso

1 x 16 mL, sustrato tamponado y cromógeno, incoloro, 0,05% TMB (Tetrametilbencidina 3,3',5,5'). Protéjase de la luz. **NOTA:** No utilice el cromógeno si presenta precipitado azul.

3.8 Solución de paro: reactivo listo para su uso

1 x 20 mL, líquido incoloro. Contiene ácido sulfúrico 0,4N. Consulte la sección Advertencias y precauciones.

4. VIDA ÚTIL Y ALMACENAMIENTO DEL EQUIPO

El equipo es estable a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. Una vez abierto, almacene todos los reactivos a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta, con excepción de los calibradores y controles que pueden ser congelados a -20 °C, sometidos a descongelación y reutilizados una vez. No utilice el equipo con posterioridad a su fecha de caducidad.

5. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este producto está indicado ÚNICAMENTE PARA SU USO EN DIAGNÓSTICOS *IN VITRO*.

Reactivos con contenido de Tetrametilbencidina 3,3',5,5'

Cromógeno: Este producto contiene Tetrametilbencidina (TMB) 3,3',5,5' (0,05%) que ha demostrado posibles efectos mutagénicos en experimentos de laboratorio.

6. TRAZABILIDAD DE ESTÁNDARES Y CONTROLES

Los calibradores y controles del equipo contienen proteína S100B. Esta proteína S100B procede de material de cerebro de bovino purificado y bien caracterizado. Los calibradores y controles han sido calibrados mediante material S100B de referencia propio.

7. MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Pipetas de precisión para 50, 100 y 150 µL.
- Mezclador vórtex.
- Agua purificada.
- Agitador de placas: 800 rpm, amplitud 1,5 mm.
- Dispositivo lavador de microplacas.
- Lector ELISA de microplacas capaz de leer a 450 nm.
- Cálculo de resultados: Algoritmo de spline cúbica.

8. RECOGIDA, PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA

- Se recomienda utilizar suero. No utilice plasma con EDTA ni citrato de sodio.
- Las muestras deben obtenerse con procedimientos estándar.
- Durante la recogida de sangre, asegúrese de que la muestra no resulte contaminada con EDTA ni citrato de sodio. El proceso de la sangre y la recogida de suero/plasma deben realizarse en un espacio de 2-4 horas.
- Almacenamiento de las muestras de suero a 2 – 8 °C: 24 horas. Para periodos de almacenamiento más prolongados, congele las muestras por debajo de -20 °C. Las muestras son estables a -20 °C durante 6 meses. Los sueros congelados deben mezclarse a fondo con suavidad tras la descongelación. Evite ciclos repetidos de congelación-descongelación.
- Evite el uso de muestras excesivamente lipémicas o contaminadas. Las muestras que contengan precipitados deben centrifugarse antes de ser sometidas a ensayo. Evite el uso de muestras tratadas con calor.
- Las muestras que contienen S100B alto (>5 µg/L) pueden diluirse. Para la dilución, debe utilizarse el diluyente S100 para ELISA.

9. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS ANTES DE SU USO

- Antes de utilizarlos, deje que todos los reactivos no abiertos y las muestras alcancen la temperatura ambiente (20 - 25 °C).
- Calibradores: Reconstituya con 1,0 mL de agua purificada. Déjelos reposar durante 20 minutos. Mezcle cuidadosamente.
- Controles: Reconstituya con 1,0 mL de agua purificada. Déjelos reposar durante 20 minutos. Mezcle cuidadosamente.
- Tampón de lavado 10x: Diluya 1:10 (tampón de lavado 1x) con agua purificada.

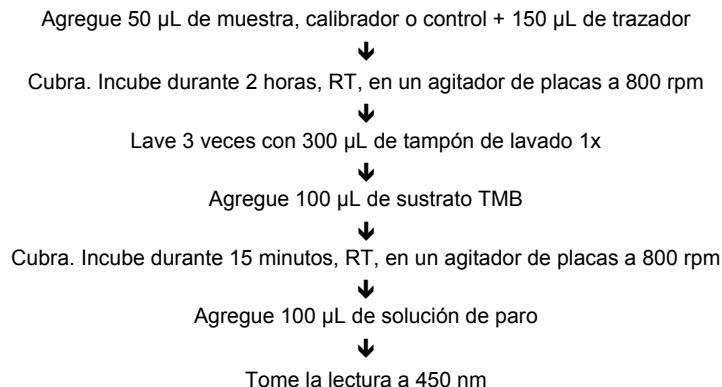
10. ALMACENAMIENTO DE LOS REACTIVOS TRAS SU UTILIZACIÓN

- Los calibradores y controles reconstituidos son estables durante 90 minutos a temperatura ambiente. Si no se utilizan todos los calibradores y controles de inmediato pueden congelarse a -20 °C, descongelarse y reutilizarse una vez.
- Todos los demás componentes deben almacenarse en sus recipientes originales a 2 - 8 °C.
- **Evite el uso** del sustrato TMB y la solución de paro que no estén en sus viales originales.
- Prepare un tampón de lavado 1x fresco una vez cada 5 días como mínimo.

11. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

- 11.1 Prepare todos los reactivos del modo indicado en la sección anterior. Mezcle las muestras en vórtex antes de dosificar con pipeta. Nota: El ensayo debe iniciarse en los 90 minutos siguientes a la reconstitución de los calibradores y controles.
- 11.2 Dosifique con pipeta 50 µL de calibradores, controles y muestras desconocidas en los pocillos.
- 11.3 Agregue 150 µL de conjugado a todos los pocillos.
- 11.4 Cubra la placa e incube durante 2 horas en un agitador de placas (800 rpm) a temperatura ambiente (RT).
- 11.5 Lave 3 veces con 300 µL de tampón de lavado 1x. Nota: Cuando se utiliza un sistema de lavado de placas automático puede ser necesario decantar manualmente la muestra y el conjugado de la placa antes del paso de lavado.
- 11.6 Agregue 100 µL de sustrato TMB a todos los pocillos.
- 11.7 Cubra la placa e incube durante 15 ± 2 minutos en un agitador de placas (800 rpm) a temperatura ambiente.
- 11.8 Detenga la reacción de la enzima agregando 100 µL de solución de paro. Agregue la solución de paro en el mismo orden y a la misma velocidad que ha utilizado para el sustrato TMB.
- 11.9 Lea la absorbancia a 450 nm utilizando un lector de microplacas durante 15 minutos.

12. DIAGRAMA DE FLUJO DEL ENSAYO



13. CONTROL DE CALIDAD

Para supervisar los resultados, cada laboratorio debe incluir al menos un control de nivel alto y otro de nivel bajo en cada ensayo. Con este fin pueden utilizarse los controles que se suministran con el equipo. Los controles del equipo contienen proteína S100B, en concentraciones tanto altas como bajas, y se han analizado con el equipo S100B de DiaSorin para establecer los valores previstos. El intervalo de las concentraciones para cada control está impreso en el certificado de análisis e indica los límites definidos por DiaSorin para los valores de los controles obtenidos con test fiables. Los controles deben tratarse como muestras desconocidas y analizarse por duplicado. Los ensayos deben considerarse válidos sólo si los resultados cumplen los criterios de aceptabilidad del laboratorio.

14. CÁLCULO DE RESULTADOS

Interpretación de los resultados

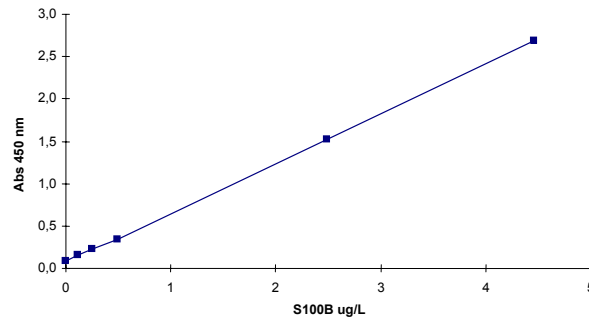
Para calcular los resultados debe utilizarse el algoritmo de spline cúbica. Si se utiliza un lector de microplacas con cálculo de datos automático, consulte el manual del usuario del instrumento.

Esto es sólo un ejemplo y no debe utilizarse para los cálculos.

Muestra	ABS 450 nm	µg/L
CAL A	0,087	0,00
CAL B	0,154	0,12
CAL C	0,221	0,25
CAL D	0,339	0,49
CAL E	1,516	2,49
CAL F	2,692	4,46
CONTROL L	0,420	0,62
CONTROL H	1,113	1,65
Muestra 1	0,109	0,40
Muestra 2	0,389	0,59
Muestra 3	1,223	2,03

Curva estándar

Esto es sólo un ejemplo y no debe utilizarse para los cálculos.



15. CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DEL RESULTADO

Rango de referencia

El punto de corte se determinó a 0,15 µg/L (el 95% de 100 muestras de sangre de donantes). No obstante, cada laboratorio debe establecer su propio límite de referencia superior.

Exactitud

La exactitud de los resultados de este ensayo está directamente relacionada con el cuidado que se presta a la dosificación con pipeta, la mezcla en vórtex, la aspiración y el seguimiento exacto de los requisitos metodológicos y de temperatura.

Rango de medición

El rango de medición alcanza hasta 5 µg/L. Las concentraciones para muestras de alto nivel pueden obtenerse mediante dilución con diluyente S100 para ELISA y repitiendo el ensayo.

Precisión

Para la evaluación de las muestras de suero a distintos niveles de concentración se ha realizado una serie por día sobre un periodo de 10 días de proceso. La estimación de la precisión intraserie e interserie se ha realizado mediante un análisis de varianza (ANOVA). En el rango de concentraciones de 0,18 a 4 µg/L, la imprecisión intraserie es del < 10%, siendo la imprecisión total del < 15%.

Muestra µg/L	Variación intraensayo (CV%)	Variación interensayo (CV%)
0,18	9,4	7,2
0,27	6,6	12,4
0,61	3,8	4,7
1,9	4,4	3,1
2,2	1,9	4,3
4,1	2,9	3,5

Sensibilidad (LDL)

El límite de detección es de 0,03 µg/L (B0+ 3SD).

Linealidad de la dilución

La linealidad de la dilución se obtuvo diluyendo tres muestras clínicas con diluyente de muestras S100B y sometiéndolas a ensayo. La linealidad de la dilución demuestra un rango de ensayo funcional de 0,2 µg/L a 4,5 µg/L.

Muestra	Dilución	Valor calculado (µg/L)	Recuperación %
1	1:1	2,94	100
	1:2	3,03	103
	1:5	3,68	125
	1:10	3,29	112
2	1:1	3,08	100
	1:2	3,49	113
	1:5	3,80	123
	1:10	4,16	135
3	1:1	3,77	100
	1:2	3,76	100
	1:5	3,81	101
	1:10	3,74	99

Componentes y reactividad cruzada

No se han observado diferencias significativas en los niveles de concentración de S100B tras la adición de heparina, heparina-protamina o propofol en comparación con el control a las concentraciones ensayadas.

Ensayo de los componentes para determinar posibles interferencias

Fármaco ensayado	Conc. medida
Heparina	5 IU/mL
Heparina-Protamina	100 IU/mL/10 mg/mL
Propofol	80 µg/mL

Gao, F, Harris, DNF, Sapsed-Byrne, S. Publication Perfusion 1997; 12:163-165

Se añadieron las potenciales sustancias interferentes endógenas a las concentraciones finales siguientes: bilirrubina, 0,125 µg/mL; triglicéridos, 12,5 mg/mL; hemoglobina 1, 2,5 y 5 mg/mL. Todas las muestras se han ensayado por duplicado. La hemoglobina elevada puede afectar a los resultados de las muestras.

Interferencia por sustancias endógenas

Interferencia potencial	Conc. medida	Valor de control medio	Valor de ensayo medio	Diferencia	% Error
Bilirrubina	125 µg/mL	0,083	0,090	0,007	8%
Triglicéridos	125 µg/mL	0,084	0,083	0,001	2%
Hemoglobina	1 mg/mL	0,087	0,091	0,004	5%
	2,5 mg/mL	0,087	0,097	0,010	11%
	5 mg/mL	0,087	0,092	0,005	6%

16. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Efecto de gancho a concentraciones altas

No se ha observado efecto de gancho para concentraciones de hasta 3.000 µg/L.

1. USO PREVISTO

Questo prodotto è destinato esclusivamente ALL'USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*.

Analisi immunologiche per la determinazione quantitativa dell'S100 nel siero umano in vitro. S100 indicato per l'uso quale coadiuvante nella gestione di pazienti affetti da melanoma maligno.

2. PRINCIPIO DEL TEST

S100 ELISA è un saggio di immunoassorbimento enzimatico a due siti, monofase. I calibratori, i controlli e i campioni non noti reagiscono simultaneamente in fase solida con due anticorpi di captazione e un anticorpo rivelatore coniugato con perossidasi di rafano (HRP) durante l'incubazione nei pozzetti per microtitolazione. Dopo la fase di lavaggio, viene aggiunto un cromogeno TMB (tetrametilbenzidina) e lasciato reagire per 15 minuti. La reazione enzimatica viene arrestata mediante aggiunta di una soluzione bloccante e l'assorbimento viene misurato a 450 nm.

3. CONTENUTO DEL KIT

Il kit contiene reagenti per 96 determinazioni.

3.1 Strisce rivestite Anti-S100B: reagente pronto all'uso

1 x 96 pozzetti per microtitolazione rivestiti con due anticorpi anti-S100B monoclonali di topo. Contiene BSA. Far stabilizzare strisce e portaprovette a temperatura ambiente (20-25°C) nel sacchetto di pellicola metallica per proteggere i pozzetti da condensazione. Una volta aperta la confezione, sigillarla nuovamente per garantire una chiusura adeguata in ambiente asciutto.

NOTA: Quando il sacchetto contenente le strisce viene aperto la prima volta, l'indicatore dell'essiccante DEVE essere blu. Se non è blu, non usare le strisce.

3.2 Coniugato HRP: reagente pronto all'uso

1 x 21 mL, liquido di colore blu-verde. Contiene un anticorpo monoclonale di topo anti-S100B coniugato con HRP, BSA e 0,5% ProClin 300 come conservante.

3.3 Calibratori: reagente liofilizzato

2 fiale per ognuno dei 6 calibratori. Ricostituire in 1,0 mL di acqua purificata. I calibratori sono composti da antigene bovino S100. Il valore del calibratore S100 è riportato sull'etichetta della fiala.

3.4 Controlli: reagente liofilizzato

2 fiale per ognuno dei 2 controlli. Ricostituire in 1,0 mL di acqua purificata. I controlli sono composti da antigene bovino S100. L'intervallo delle concentrazioni di ogni controllo è stampato sul certificato di analisi e indica i limiti stabiliti da DiaSorin per i valori dei controlli ottenuti con dosaggi affidabili.

3.5 Diluente per campione: reagente pronto all'uso

1 x 10 mL, liquido incolore pronto all'uso. Contiene 0,5% ProClin 300 come conservante.

3.6 Wash Buffer (Tampone di lavaggio) (10X): soluzione liquida

2 x 50 mL, concentrato PBS-Tween. L'1X Wash Buffer è stabile se conservato a temperatura ambiente (20-25°C) per 5 giorni. **NOTA:** Non usare se il tampone è torbido.

3.7 Soluzione TMB: reagente pronto all'uso

1 x 16 mL, substrato tamponato e cromogeno, incolore, 0,05% TMB (3,3', 5,5' tetrametilbenzidina). Proteggere dalla luce. **NOTA:** Non usare in presenza di precipitato blu.

3.8 Soluzione bloccante: reagente pronto per l'uso

1 x 20 mL, liquido incolore. Contiene acido solforico 0,4N. Vedere il paragrafo Avvertenze e Precauzioni.

4. DURATA E CONSERVAZIONE DEL KIT

Il kit è stabile alla temperatura di 2-8°C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Dopo l'apertura, conservare tutti i reagenti a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, eccetto per i calibratori e i controlli che possono essere congelati a -20°C, scongelati e riutilizzati una volta. Non usare il kit dopo la data di scadenza.

5. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Questo prodotto è destinato esclusivamente ALL'USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*.

Reagenti contenenti 3,3',5,5' tetrametilbenzidina

Cromogeno: Questo prodotto contiene 3,3',5,5' tetrametilbenzidina (TMB) 0,05% che, secondo esperimenti condotti in laboratorio, può essere causa di effetti mutageni.

6. TRACCIABILITA' DEGLI STANDARD E DEI CONTROLLI

I calibratori e i controlli del kit consistono di proteina S100B. La proteina S100B deriva da cervello bovino purificato e ben caratterizzato. I calibratori e i controlli sono calibrati in base a materiale S100B di riferimento interno.

7. MATERIALI NECESSARI, NON FORNITI IN DOTAZIONE

- Pipette di precisione per 50, 100 e 150 µL.
- Mixer Vortex.
- Acqua purificata.
- Agitatore piastra: 800 rpm, ampiezza 1,5 mm.
- Dispositivo per lavaggio micropiastra.
- Lettore micropiastra ELISA con capacità di rilevazione di 450 nm.
- Calcolo dei risultati: algoritmo spline cubica.

8. RACCOLTA DEI CAMPIONI, PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE

- Si consiglia l'uso di siero. Non usare plasma EDTA o sodio citrato.
- Raccogliere i campioni mediante procedure standard.
- Durante il prelievo del sangue, fare attenzione che il campione non venga contaminato con EDTA o sodio citrato. Il sangue dovrà essere lavorato e il siero/plasma raccolto entro 2-4 ore.
- Conservazione dei campioni di siero a 2-8°C: 24 ore. Per tempi di conservazione più lunghi, congelare a -20°C. I campioni sono stabili a -20°C per 6 mesi. I sieri congelati dovranno essere mescolati delicatamente, ma accuratamente, dopo lo scongelamento. Evitare cicli di congelamento-scongelamento ripetuti.
- Non usare campioni fortemente lipemici o contaminati. I campioni che presentano precipitati dovranno essere centrifugati prima dell'analisi. Non usare campioni inattivati dal calore.
- I campioni con elevato S100B (>5 µg/L) possono essere diluiti. Per la diluizione, usare il diluente S100 ELISA.

9. PREPARAZIONE DEI REAGENTI PRIMA DELL'USO

- Lasciare che tutti i reagenti, nella loro confezione originale, e i campioni raggiungano temperatura ambiente (20-25°C) prima dell'uso.
- Calibratori: ricostituire in 1,0 mL di acqua purificata. Lasciar riposare per 20 minuti. Mescolare accuratamente.
- Controlli: ricostituire in 1,0 mL di acqua purificata. Lasciar riposare per 20 minuti. Mescolare accuratamente.
- 10x Wash Buffer: diluire a 1:10 (1x Wash Buffer) con acqua purificata.

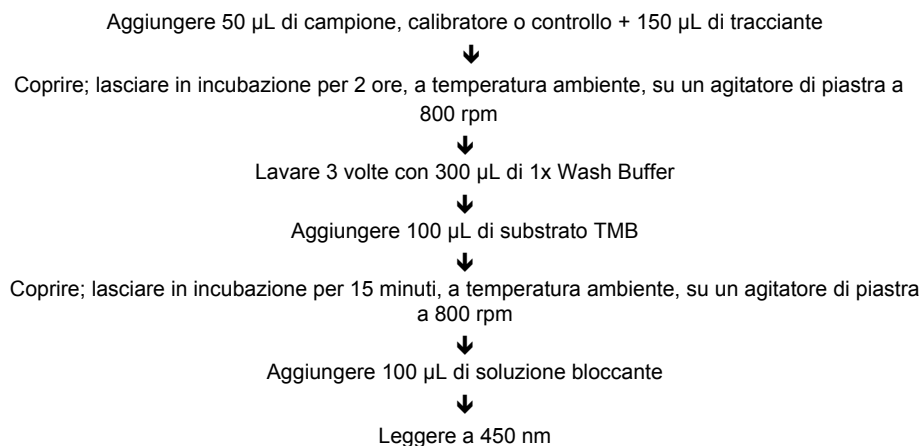
10. CONSERVAZIONE DEI REAGENTI DOPO L'USO

- I calibratori e i controlli ricostituiti sono stabili per 90 minuti a temperatura ambiente. Se i calibratori e i controlli non vengono tutti utilizzati immediatamente, possono essere congelati a - 20°C, scongelati e riutilizzati una volta.
- Tutti gli altri componenti aperti dovranno essere conservati a 2-8°C nei loro contenitori originali.
- Il substrato TMB e la soluzione bloccante, che sono stati prelevati dalle fiale originali, dovranno essere scartati.
- Si consiglia di preparare nuovo tampone di lavaggio (1x) almeno una volta ogni 5 giorni.

11. PROCEDURA DI ANALISI

- 11.1 Preparare tutti i reagenti come descritto alla sezione precedente. Mescolare i campioni con un Vortex prima di dispensare con pipetta. Nota: Avviare l'analisi entro 90 minuti dalla ricostituzione dei calibratori e dei controlli.
- 11.2 Versare con pipetta 50 µL di calibratori, controlli e campioni non noti nei pozzetti.
- 11.3 Aggiungere 150 µL di coniugato in tutti i pozzetti.
- 11.4 Coprire la piastra e lasciare in incubazione per 2 ore su un agitatore (800 rpm) a temperatura ambiente (RT).
- 11.5 Lavare 3 volte con 300 µL di 1x Wash Buffer. Nota: Se si utilizza un sistema automatizzato di lavaggio, il campione e il coniugato dovranno essere fatti decantare manualmente dalla piastra prima del lavaggio.
- 11.6 Aggiungere 100 µL di substrato TMB in tutti i pozzetti.
- 11.7 Coprire la piastra e lasciare in incubazione per 15 ± 2 minuti su un agitatore di piastra (800 rpm) a temperatura ambiente.
- 11.8 Bloccare la reazione mediante aggiunta di 100 µL di soluzione bloccante. Aggiungere la soluzione bloccante nello stesso ordine e velocità impiegate per il substrato TMB.
- 11.9 Leggere l'assorbanza a 450 nm utilizzando un lettore micropiastra entro 15 minuti.

12. DIAGRAMMA DELL'ANALISI



13. CONTROLLO DI QUALITÀ

Ogni laboratorio deve includere almeno un controllo a livello basso e un controllo a livello alto in ogni analisi per monitorare le prestazioni. A tale fine possono essere utilizzati i controlli forniti con il kit. L'intervallo delle concentrazioni di ogni controllo è stampato sul certificato di analisi e indica i limiti stabiliti da DiaSorin per i valori dei controlli ottenuti con dosaggi affidabili. I controlli devono essere considerati come campioni non noti e analizzati in duplice copia. Le analisi sono da ritenersi valide solo se i risultati corrispondono ai criteri del laboratorio per quanto concerne l'accettabilità.

14. CALCOLO DEI RISULTATI

Interpretazione dei risultati

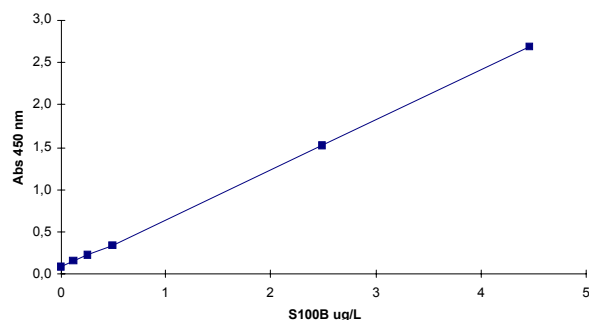
Per il calcolo dei risultati utilizzare l'algoritmo spline cubica. Se si impiega un lettore micropietra in grado di calcolare automaticamente i dati, fare riferimento alle istruzioni per l'uso dello strumento.

Quanto segue è solamente un esempio e non deve essere usato per i calcoli.

Campione	ABS 450 nm	µg/L
CAL A	0,087	0,00
CAL B	0,154	0,12
CAL C	0,221	0,25
CAL D	0,339	0,49
CAL E	1,516	2,49
CAL F	2,692	4,46
CONTROLLO L	0,420	0,62
CONTROLLO H	1,113	1,65
Campione 1	0,109	0,40
Campione 2	0,389	0,59
Campione 3	1,223	2,03

Curva standard

Quanto segue è solamente un esempio e non deve essere usato per i calcoli.



15. CARATTERISTICHE SPECIFICHE DELLE PERFORMANCE

Range di riferimento

Il punto di cut-off è stato stabilito a 0,15 $\mu\text{g/L}$ (il 95%-ile di 100 campioni di donatori di sangue). Ogni laboratorio, tuttavia, dovrà stabilire un proprio limite massimo di riferimento.

Precisione

L'attendibilità dei risultati di questa analisi è direttamente correlata al grado di attenzione esercitata durante le operazioni con pipetta, Vortex, aspirazione e all'osservanza ai requisiti metodologici e alla temperatura.

Range di misurazione

Il range di misurazione è fino a 5 $\mu\text{g/L}$. Concentrazioni superiori in campioni possono essere ottenute mediante diluizione con il diluente S100 ELISA e ripetizione dell'analisi.

Precisione

Sono stati valutati campioni di siero a livelli di concentrazione diversi eseguendo un'analisi al giorno per dieci giorni operativi. La precisione intra-analisi e fra cicli di analisi è stata stimata mediante l'analisi della varianza (ANOVA). Nell'ambito del range delle concentrazioni comprese fra 0,18 e 4 $\mu\text{g/L}$, l'imprecisione intra-analisi è risultata pari al < 10%, mentre l'imprecisione complessiva è risultata pari al < 15%.

Campione $\mu\text{g/L}$	Variazione intra-analisi (CV%)	Variazione inter-analisi (CV%)
0,18	9,4	7,2
0,27	6,6	12,4
0,61	3,8	4,7
1,9	4,4	3,1
2,2	1,9	4,3
4,1	2,9	3,5

Sensibilità (LDL)

Il limite di rilevazione è 0,03 $\mu\text{g/L}$ ($B_0 + 3SD$).

Linearità della diluizione

La linearità della diluizione è stata valutata mediante diluizione di tre campioni clinici con diluente per campioni S100B e procedendo all'analisi. La linearità della diluizione dimostra un range funzionale da 0,2 µg/L a 4,5 µg/L.

Campione	Diluizione	Valore calcolato (µg/L)	Recupero %
1	1:1	2,94	100
	1:2	3,03	103
	1:5	3,68	125
	1:10	3,29	112
2	1:1	3,08	100
	1:2	3,49	113
	1:5	3,80	123
	1:10	4,16	135
3	1:1	3,77	100
	1:2	3,76	100
	1:5	3,81	101
	1:10	3,74	99

Composti e reattività incrociata

Non sono state osservate differenze significative nei livelli di concentrazione di S100B dopo l'aggiunta di eparina, eparina/protamina o propofol rispetto al controllo alle concentrazioni testate.

Composti analizzati per potenziali interferenze

Farmaco testato	Conc. testata
Eparina	5 IU/mL
Eparina/Protamina	100 IU/mL/10 mg/mL
Propofol	80µg/mL

Gao, F, Harris, DNF, Sapsed-Byrne, S. Publication Perfusion 1997; 12:163-165

Sostanze endogene potenzialmente interferenti sono state aggiunte alle seguenti concentrazioni finali: bilirubina, 0,125 µg/mL; trigliceridi, 12,5 mg/mL; emoglobina 1, 2,5 and 5 mg/mL. Ciascun campione per il test è stato analizzato in duplicato. Livelli elevati di emoglobina possono influire sui risultati dei campioni.

Interferenza da parte di sostanze endogene

Potenziale interferente	Conc. testata	Valore medio controllo	Valore medio test	Differenza	% Errore
Bilirubina	125 µg/mL	0,083	0,090	0,007	8%
Trigliceridi	125 µg./mL	0,084	0,083	0,001	2%
Emoglobina	1 mg/mL	0,087	0,091	0,004	5%
	2,5 mg/mL	0,087	0,097	0,010	11%
	5 mg/mL	0,087	0,092	0,005	6%

16. Limiti della procedura

Effetto gancio

Nessun effetto gancio è stato osservato fino a 3000 µg/L.

1. APLICAÇÃO DIAGNÓSTICA

Este produto destina-se SOMENTE PARA A UTILIZAÇÃO EM DIAGNÓSTICO *IN VITRO*. Imunoensaio para a determinação quantitativa *in vitro* da proteína S100 no soro humano. O dispositivo S100 deve ser utilizado como auxílio no tratamento de doentes afectados por melanoma maligno.

2. PRINCÍPIO DO ENSAIO

O S100 é um teste baseado na técnica ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), com apenas um passo. No ensaio os calibradores, controlos e amostras reagem simultaneamente com 2 anticorpos de captura na fase sólida e um anticorpo detector, conjugado com peroxidase de rábano (HRP), durante a incubação nos poços da microplaca. Após lavagem é adicionado o Cromogénio TMB (Tetrametilbenzidina) e a reacção prossegue durante 15 minutos. A reacção enzimática é parada pela adição de Solução de Paragem e a absorvância é medida a 450 nm.

3. REAGENTES E ACESSÓRIOS

O dispositivo contém reagentes para 96 determinações.

3.1 Anti-S100B – tiras sensibilizadas: pronto a usar

1 x 96 poços da microplaca revestidos com 2 anticorpos anti-S100B monoclonais de ratinho. Contém BSA. Deixar as tiras e o suporte à temperatura ambiente (20-25°C) antes de abrir a embalagem para evitar condensação de água nos poços. Coloque as tiras não utilizadas na embalagem, feche hermeticamente e mantenha a 2-8°C.

NOTA: Quando abrir pela primeira vez a embalagem da microplaca, o indicador dessecante TEM de estar azul. Se não estiver azul, não use as tiras.

3.2 HRP- conjugado: pronto a usar

1 x 21 mL, líquido azul-esverdeado. Contém anticorpos anti-S100B monoclonais de ratinho, conjugado com HRP, BSA e 0,5% ProClin 300 como conservante.

3.3 Calibradores: reagente liofilizado

6 calibradores - 2 frascos de cada. Reconstituir com 1,0 mL de água destilada. Os Calibradores contêm antígeno S100 de bovino. O valor dos Calibradores S100 está indicado nos rótulos dos frascos.

3.4 Controlos: reagente liofilizado

2 controlos - 2 frascos de cada. Reconstituir com 1,0 mL de água destilada. Os Controlos contêm antígeno S100 de bovino. O intervalo das concentrações para cada controlo está imprimido no certificado de análise e indica os limites definidos pela DiaSorin para os valores dos controlos obtidos com ensaios fiáveis.

3.5 Diluente da Amostra: pronto a usar

1 x 10 mL, pronto a usar, incolor. Contém 0,5% ProClin 300 como conservante.

3.6 Tampão de Lavagem 10X: solução

2 x 50 mL, PBS-Tween concentrado. O Tampão de Lavagem é estável durante 5 dias, quando conservado à temperatura ambiente (20-25°C). **NOTA:** Não utilizar se o tampão estiver turvo.

3.7 Solução TMB: pronto a usar

1 x 16 mL, Tampão substrato e cromogénio, incolor, 0,05% TMB (3,3',5,5' Tetrametilbenzidina). Proteger ao abrigo da luz **NOTA:** Não utilizar se estiver presente um precipitado azul.

3.8 Solução de Paragem: pronto a usar

1 x 20 mL, incolor. Contém ácido sulfúrico 0,4 N. Consultar a secção Advertências e Precauções.

4. PRAZO DE VALIDADE E CONSERVAÇÃO DO DISPOSITIVO

O dispositivo é estável a 2-8°C até à data de validade indicada no rótulo. Após a abertura, armazene todos os reagentes a 2-8°C até à data de validade indicada no rótulo, excepto para os calibradores e controlos que podem ser congelados a -20°C, descongelados e reutilizados uma vez. Não utilizar os reagentes fora do prazo de validade.

5. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

APENAS PARA AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO.

Reagentes com 0,4 N H₂SO₄

ADVERTÊNCIA - IRRITANTE

Este produto contém 0,4 N H₂SO₄ (Solução de Paragem)

“European Communities Hazardous Substance Risk Phrases” (Directiva 1999/45 EC)

R34 – Causa queimaduras.

S26 – Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico.

S30 – Nunca adicionar água a este produto.

S37/39 – usar luvas e protecção para olhos/face apropriadas.

Reagentes com 3,3',5,5' Tetrametilbenzidina

Cromogénio: Este produto contém 3,3',5,5' Tetrametilbenzidina (TMB) (0.05%) que apresentou em experiências laboratoriais, possíveis efeitos mutagénicos.

6. CALIBRADORES E CONTROLOS

Os calibradores e controlos do dispositivo contém proteína S100B. Esta proteína S100B tem origem em material cerebral de bovino purificado, bem caracterizado. Os Calibradores e Controlos são calibrados contra material S100B de referência próprios (in-house).

7. MATERIAL NECESSÁRIO, MAS NÃO FORNECIDO

- Pipetas de Precisão para 50, 100 e 150 µL.
- Vortex.
- Água destilada.
- Agitador para placa: 800 rpm, amplitude 1.5 mm.
- Lavador de Microplacas.
- Leitor ELISA de Microplacas, com capacidade de leitura de 450 nm.
- Cálculo dos resultados: algoritmo cubico Spline.

8. COLHEITA DA AMOSTRA, PREPARAÇÃO E CONSERVAÇÃO

- Recomenda-se a utilização de soro. **Não utilizar plasma EDTA – ou citrato de sódio.**
- Recolha as amostras utilizando procedimentos padrão.
- Durante a colheita garantir que a amostra não é contaminada com EDTA ou citrato de sódio. O sangue deve ser processado dentro de 2-4 horas
- Conservar as amostras de soro a 2-8°C: 24 horas. Para períodos mais longos congelar a -20°C. As amostras são estáveis a -20°C durante 6 meses. O soro congelado, depois de descongelar deve ser bem misturado. Evitar a repetição de ciclos congelar/descongelar.
- Não utilizar amostras fortemente lipémicas ou contaminadas. Amostras com precipitados devem ser centrifugadas antes de testadas. Não utilizar amostras inactivadas termicamente.
- Amostras de S100B elevadas (>5 µg/L) podem ser diluídas. Deve ser utilizado para a diluição, Diluente S100 ELISA.

9. PREPARAÇÃO DOS REAGENTES ANTES DE USAR

- Deixar os reagentes fechados e as amostras à temperatura ambiente (20-25°C) antes de usar.
- Calibradores: Reconstituir em 1,0 mL de água destilada. Deixar em repouso durante 20 minutos. Misturar bem.
- Controlos: Reconstituir em 1,0 mL de água destilada. Deixar em repouso durante 20 minutos. Misturar bem.
- 10x Tampão de Lavagem: Diluir 1:10 (1x tampão de lavagem) com água destilada.

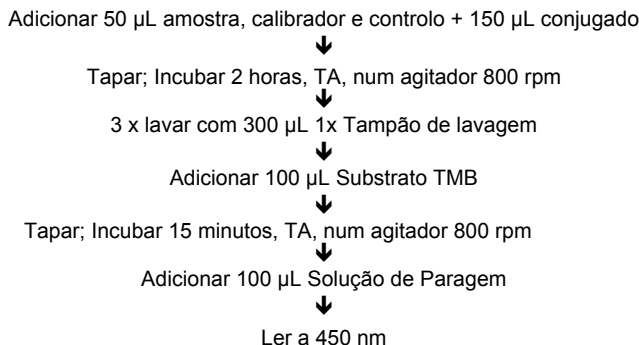
10. ARMAZENAMENTO DOS REAGENTES DEPOIS DE USAR

- Os calibradores e controlos reconstituídos são estáveis durante 90 minutos à temperatura ambiente. Se os calibradores e controlos não forem utilizados imediatamente na totalidade, podem ser congelados a -20°C, descongelados e reutilizados apenas uma vez.
- Todos os outros componentes, depois de abertos, devem ser conservados a 2 – 8°C na embalagem original.
- O substrato TMB e a Solução de Paragem, depois de retirados dos frascos, **devem ser descartados**.
- Deve ser preparado Tampão de Lavagem fresco pelo menos de 5 em 5 dias.

11. PROCEDIMENTO DE TESTE

- 11.1 Prepare todos os reagentes como descrito anteriormente. Misturar as amostras em vortex antes de pipetar. **Nota:** O teste tem de ser iniciado nos 90 minutos após reconstituição dos calibradores e controlos.
- 11.2 Pipete 50 µL dos calibradores, controlos e amostras para os respectivos poços.
- 11.3 Adicione 150 µL de conjugado a todos os poços.
- 11.4 Cubra a placa e incube durante 2 horas num agitador (800 rpm) à temperatura ambiente (TA).
- 11.5 Lave os poços 3 vezes com 300 µL de Tampão de Lavagem. **Nota:** Pode ser necessário decantar a amostra e o conjugado da placa manualmente, antes da lavagem, se for utilizado um lavador automático.
- 11.6 Adicione 100 µL de Substrato TMB a todos os poços.
- 11.7 Cubra a placa e incube 15 ± 2 minutos num agitador (800 rpm) à temperatura ambiente.
- 11.8 Pare a reacção adicionando 100 µL de Solução de Paragem. Adicione a Solução de Paragem na mesma ordem e velocidade, usada para dispensar o substrato TMB.
- 11.9 Ler a absorvância a 450 nm utilizando um leitor de microplacas dentro de 15 minutos.

12. FLUXOGRAMA DO TESTE



13. CONTROLO DE QUALIDADE

Cada laboratório deve incluir no mínimo um controlo alto e um controlo baixo em todos os ensaios, para monitorizar o desempenho do teste. Os controlos fornecidos com o dispositivo podem ser utilizados com esse objectivo. Os controlos do dispositivo contêm proteína S100B em concentrações alta e baixa, e foram testados utilizando o dispositivo DiaSorin S100B para estabelecer os limites esperados. O intervalo das concentrações para cada controlo está imprimido no certificado de análise e indica os limites definidos pela DiaSorin para os valores dos controlos obtidos com ensaios fiáveis. Os controlos devem ser tratados como amostras desconhecidas e testados em duplicado. O ensaio deve ser considerado válido apenas se os resultados cumprirem os critérios de validação do laboratório.

14. CALCULO DOS RESULTADOS

Interpretação dos Resultados

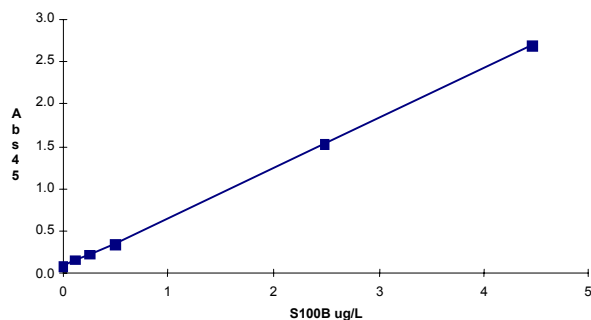
O algoritmo cúbico Spline deve ser utilizado para calcular os resultados. Se utilizar um Leitor de Microplacas com cálculo automático dos resultados, consultar o manual de instruções do equipamento.

Estes dados são apenas um exemplo e não devem ser utilizados para os cálculos.

Amostra	ABS 450 nm	µg/L
CAL A	0.087	0.00
CAL B	0.154	0.12
CAL C	0.221	0.25
CAL D	0.339	0.49
CAL E	1.516	2.49
CAL F	2.692	4.46
CONTROLO L	0.420	0.62
CONTROLO H	1.113	1.65
Amostra 1	0.109	0.40
Amostra 2	0.389	0.59
Amostra 3	1.223	2.03

Curva Padrão

Esta curva é apenas um exemplo e não deve ser utilizada para os cálculos.



15. CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO

Valores de Referência

O Cut-off foi determinado em 0,15 µg/L (95% de 100 dadores de sangue). Cada laboratório deve estabelecer o seu valor de referência para a população considerada.

Exactidão

A exactidão dos resultados do ensaio está directamente relacionada com o grau de cuidado aplicado durante as pipetagens, homogenização, aspiração e aderência aos requisitos da metodologia e temperatura.

Limite de Medição

O limite de medição é 5 µg/L. As concentrações para amostras elevadas podem ser obtidas por diluição com Diluente S100 ELISA e repetindo o ensaio.

Precisão

Diferentes amostras, com diferentes níveis de concentrações foram avaliadas, efectuando um ensaio por dia, durante 10 dias. A precisão Intra-ensaio e Inter-ensaio foi determinada pela análise da variação (ANOVA). Dentro do intervalo de concentrações de 0,18 a 4 µg/L, a imprecisão intra-ensaio é < 10% e a imprecisão total é < 15%.

Amostra µg/L	Variação Intra- ensaio (CV%)	Variação Inter- ensaio (CV%)
0.18	9.4	7.2
0.27	6.6	12.4
0.61	3.8	4.7
1.9	4.4	3.1
2.2	1.9	4.3
4.1	2.9	3.5

Sensibilidade (LDL)

O limite de detecção é 0,03 µg/L (B0+ 3SD).

Linearidade da Diluição

A Linearidade da diluição foi testada utilizando três amostras clínicas diluídas com Diluente da amostra S100B. A Linearidade da diluição demonstra uma variação funcional do ensaio de 0,2 µg/L a 4.5 µg/L.

Amostra	Diluição	Valor Calculado (µg/L)	Recuperação %
1	1:1	2.94	100
	1:2	3.03	103
	1:5	3.68	125
	1:10	3.29	112
2	1:1	3.08	100
	1:2	3.49	113
	1:5	3.80	123
	1:10	4.16	135
3	1:1	3.77	100
	1:2	3.76	100
	1:5	3.81	101
	1:10	3.74	99

Compostos Interferentes e Reactividade-Cruzada

Não foram observadas diferenças significativas nos níveis de concentração no S100B após adição de heparina, heparina/protamina ou propofol quando comparado com o controle, nas concentrações testadas.

Compostos Testados para Potencial Interferência

Composto Testado	Conc. Testada
Heparina	5 IU/mL
Heparina/Protamina	100 IU/mL/10 mg/mL
Propofol	80 µg/mL

Gao, F, Harris, DNF, Sapsed-Byrne, S. Publication Perfusion 1997; 12:163-165

Foram adicionadas substâncias endógenas, potencialmente interferentes, nas concentrações seguintes: bilirrubina, 0,125 µg/mL; triglicéridos, 12,5 mg/mL; hemoglobina 1, 2,5 e 5 mg/mL. Cada amostra foi testada em duplicado. Hemoglobina elevada pode afectar os resultados das amostras.

Interferência por Substâncias Endógenas

PotencialInterferente	Conc. Testada	Valor Médio Controlo	Valor Médio Teste	Diferença	% Erro
Bilirrubina	125 µg/mL	0.083	0.090	0.007	8%
Triglicéridos	12.5 mg/mL	0.084	0.083	0.001	2%
Hemoglobina	1 mg/mL	0.087	0.091	0.004	5%
	2.5 mg/mL	0.087	0.097	0.010	11%
	5 mg/mL	0.087	0.092	0.005	6%

16. Limitações do Teste

Efeito de saturação a altas concentrações

Não se verifica um efeito de saturação a altas concentrações até 3000 µg/L.

1. ANVENDELSESFORMÅL

Dette produkt er KUN beregnet til *IN VITRO* DIAGNOSTIK.

Immunoassay voor de kwantitatieve in vitro bepaling van S100 in menselijk serum. S100 is bedoeld als hulpmiddel voor het beheer van patienten die lijden aan maligne melanomen.

2. ANALYSEPRINCIP

S100 ELISA er et tosidet, et-trins enzym-forbundet immunassay. Ved analysen reagerer kalibratorer, kontroller og ukendte prøver samtidig med 2 fast-fase capture-antigener og et detektor-antigen konjugeret med HRP (peberrodsperoxidase) under inkubering i mikrotiterbrønde. Efter et vasketrin tilsættes et TMB-kromogen (tetrametylbenzidin), og prøven henstår i til reaktion i 15 minutter. Enzymreaktionen stoppes ved at tilsætte en stopreagens, og absorbansen måles ved 450 nm.

3. KITTETS INDHOLD

Kittet indeholder reagenser til 96 bestemmelser.

3.1 Anti-S100B-coatede strips: brugsklar reagens

1 x 96 mikrotiterbrønde coatet med 2 monoklonale anti-S100B-antigener fra mus. Indeholder BSA. Lad strips og holder akklimatisere sig til rumtemperaturen (20-25°C) i folieposen for at forebygge kondensdannelse i brøndene. Når posen har været åbnet, skal den altid forsegles igen for at sikre, at den forbliver et fugtfrit miljø.

BEMÆRK: Når posen med strips åbnes første gang, SKAL indikatoren på affugtningsmidlet være blå. Hvis indikatoren ikke er blå, må stripsene ikke bruges.

3.2 HRP-konjugat: brugsklar reagens

1 x 21 mL blågrøn væske. Indeholder et monoklonalt anti-S100B-antigen fra mus konjugeret med HRP, BSA og 0,5% ProClin 300 som konserveringsmiddel.

3.3 Kalibratorer: lyofiliseret reagens

2 hætteglas à 6 kalibratorer. Rekonstitueres i 1,0 mL rensat vand. Kalibratorerne består af S100 bovint antigen. Kalibratorens S100 værdi fremgår af mærkaterne på hætteglassene.

3.4 Kontroller: lyofiliseret reagens

2 hætteglas af hver af de 2 kontroller; rekonstitueres i 1,0 mL rensat vand. Kontrollerne består af S100 bovint antigen. Det forventede reference interval for hver kontrol står i analyse certifikatet og viser de grænser, der er fastsat af DiaSorin for de mulige kontrolværdier, fundet ved analysering på pålidelig vis.

3.5 Fortyndingsbuffer til prøvemateriale: brugsklar reagens

1 x 10 mL brugsklar, farveløs væske. Indeholder 0,5% ProClin 300 som konserveringsmiddel.

3.6 Vaskebuffer 10X: flydende form

2 x 50 mL, et PBS-Tween-koncentrat. 1X vaskebufferen er stabil, når den opbevares ved rumtemperatur (20-25°C) i 5 dage. **BEMÆRK:** Bufferen må ikke bruges, hvis den er uklar.

3.7 TMB-opløsning: brugsklar reagens

1 x 16 mL buffet substrat og kromogen; farveløst, 0,05% TMB (3,3',5,5' tetrametylbenzidin). Må ikke udsættes for lys. **BEMÆRK:** Bufferen må ikke bruges, hvis der er blåt bundfald.

3.8 Stopreagens: brugsklar reagens

1 x 20 mL farveløs væske. Indeholder 0,4N svovlsyre. Se afsnittet Advarsler og forholdsregler.

4. KITTETS HOLDBARHED OG OPBEVARING

Kittet er stabilt ved 2-8°C indtil udløbsdatoen på etiketten. Efter åbning skal alle reagenser opbevares ved 2-8°C indtil udløbsdatoen på etiketten, dog undtagen kalibratorer og kontroller, der kan nedfryses til -20°C, optøs og genbruges én gang. Kittet må ikke bruges efter udløbsdatoen.

5. ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

Dette produkt er KUN beregnet til *IN VITRO* DIAGNOSTIK.

Reagenserne indeholder 3,3',5,5' tetrametylbenzidin.

Kromogen: Dette produkt indeholder 3,3',5,5' tetrametylbenzidin (TMB) 0,05%), for hvilket mulig mutagenicitet er påvist ved laboratorieeksperimenter.

6. SPORBARHED AF STANDARDER OG KONTROLLER

Sættets kalibratorer og kontroller består af S100B protein. Dette S100B protein hidrører fra oprenset og velkarakteriseret bovint hjernemateriale. Kalibratorer og kontroller kalibreres i forhold til internt S100B-referencemateriale.

7. NØDVENDIGT MATERIALE, DER IKKE MEDFØLGER

- Præcisionspipetter til 50, 100 og 150 µL.
- Hvirvelmikser.
- Renset vand.
- Rystebord: 800 o/min, amplitude 1,5 mm.
- Skyleanordning til mikroplader.
- Læser til ELISA mikroplader med 450 nm læsekapacitet.
- Beregning af resultater: Cubic spline-algoritme.

8. OPSAMLING, PRÆPARERING OG OPBEVARING AF PRØVER

- Det anbefales at bruge serum. Brug ikke plasma stabiliseret med EDTA eller natriumcitrat.
- Brug standardprocedurer ved prøveudtagning.
- Ved blodprøvetagning skal man sørge for, at prøven ikke forurenes med EDTA eller natriumcitrat. Blodet bør behandles og serum/plasma opsamles inden for 2–4 timer.
- Opbevaring af serumprøver ved 2–8°C: 24 timer. Ved længere tids opbevaring nedfryses de til under –20°C. Prøver er stabile ved –20°C i 6 måneder. Frosne sera skal blandes forsigtigt, men grundigt efter optøning. Undgå gentagen nedfrysning og optøning.
- Brug ikke prøver med udpræget lipæmi, eller som er forurenede. Prøver, der indeholder bundfald, skal centrifugeres inden testen. Brug ikke prøvemateriale, der er stabiliseret med varme.
- Prøver med højt S100B (>5 µg/L) kan fortyndes. I så fald bør der bruges S100 ELISA fortyndingsbuffer.

9. KLARGØRING AF REAGENSER

- Lad uåbnede reagenser og prøver stå og akklimatisere sig til rumtemperatur (20–25°C), inden de bruges.
- Kalibratorer: Rekonstitueres i 1,0 mL rensset vand. Lad dem stå i 20 minutter. Bland omhyggeligt.
- Kontroller: Rekonstitueres i 1,0 mL rensset vand. Lad dem stå i 20 minutter. Bland omhyggeligt.
- Vaskebuffer 10x: Fortyndes 1:10 (1x vaskebuffer) med rensset vand.

10. OPBEVARING AF REAGENSER EFTER BRUG

- Rekonstituerede kalibrаторer og kontroller er stabile i 90 minutter ved rumtemperatur. Hvis ikke alle kalibrаторer og kontroller bruges med det samme, kan de nedfryses til -20°C , optøs og genbruges én gang.
- Alle andre åbenede komponenter bør opbevares i de originale beholdere ved $2 - 8^{\circ}\text{C}$.
- TMB-substrat og stopreagens, der er hældt ud af de originale hætteglas, **skal kasseres**.
- Der bør blandes frisk 1x vaskebuffer mindst hver 5. dag.

11. PROCEDURE FOR ASSAY

- 11.1 Klargør alle reagenserne som beskrevet i forrige afsnit. Bland prøverne med en hvirvelmikser inden pipettering. **BEMÆRK:** Testen skal startes senest 90 minutter efter rekonstituering af kalibrаторer og kontroller.
- 11.2 Pipetér 50 μL kalibrаторer, kontroller og ukendte prøver i brøndene.
- 11.3 Tilsæt 150 μL konjugat i alle brønde.
- 11.4 Dæk pladen og inkuber i 2 timer på et rystebord (800 o/min) ved stuetemperatur (RT).
- 11.5 Vask 3 gange med 300 μL 1x vaskebuffer. **Bemærk:** Det kan være nødvendigt at dekantere prøven og konjugere den manuelt fra pladen inden vasketrinnet, hvis der bruges et automatisk vaskesystem.
- 11.6 Tilsæt 100 μL TMB-substrat til alle brønde.
- 11.7 Dæk pladen og inkuber i 15 ± 2 minutter på et rystebord (800 o/min) ved stuetemperatur.
- 11.8 Stop reaktionen ved at tilsætte 100 μL stopreagens. Tilsæt stopreagensen i samme rækkefølge og tempo som TMB-substratet.
- 11.9 Aflæs inden 15 minutter absorbansen ved 450 nm ved hjælp af en mikropadelæser.

12. ARBEJDSGANG FOR ASSAY

Tilsæt 50 μL prøvemateriale, kalibrатор eller kontrol + 150 μL tracer



Læg låg på, inkuber i 2 timer, RT, på rystebord ved 800 o/min



Vask 3 gange med 300 μL 1x vaskebuffer.



Tilsæt 100 μL TMB-substrat



Læg låg på, inkuber i 15 minutter, RT, på rystebord ved 800 o/min



Tilsæt 100 μL stopreagens



Aflæs ved 450 nm

13. KVALITETSKONTROL

Alle laboratorier skal medtage mindst én høj og én lav kontrol i hvert assay for at overvåge assayets performance. Til det formål kan man bruge de kontroller, der medfølger i kittet. Kittets kontroller indeholder S100B protein ved både høje og lave koncentrationer, og der er udført assay på dem med DiaSorin S100B-kittet for at fastslå de forventelige intervaller. Det forventede reference interval for hver kontrol står i analyse certifikatet og viser de grænser, der er fastsat af DiaSorin for de mulige kontrolværdier, fundet ved analysering på pålidelig vis. Kontrollerne bør behandles som ukendte prøver og dobbeltbestemmes. Assayene bør kun anses for gyldige, hvis resultaterne overholder laboratoriets godkendelseskriterier.

14. BEREGNING AF RESULTATER

Tolkning af resultater

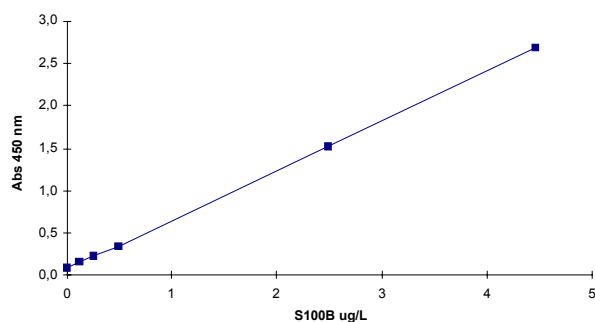
Cubic Spline-algoritmen bør bruges til beregning af resultater. Når der bruges en mikropladelæser med automatisk databeregning: Se brugervejledningen til det pågældende instrument.

Dette er kun et eksempel og må ikke bruges i beregningerne.

Prøve	ABS 450 nm	µg/L
KAL A	0,087	0,00
KAL B	0,154	0,12
KAL C	0,221	0,25
KAL D	0,339	0,49
KAL E	1,516	2,49
KAL F	2,692	4,46
KONTROL L	0,420	0,62
KONTROL H	1,113	1,65
Prøve nr. 1	0,109	0,40
Prøve nr. 2	0,389	0,59
Prøve nr. 3	1,223	2,03

Standardkurve

Dette er kun et eksempel og må ikke bruges i beregningerne.



15. SPECIFIKKE BRUGSEGSKABER - PERFORMANCE

Referenceinterval

Cutoff blev fastsat til 0,15 µg/L (en procentandel på 95 af 100 prøver af donorblod).
Dog bør hvert laboratorium fastsætte sin egen øvre referencegrænse.

Nøjagtighed

Nøjagtigheden af denne analyses resultater er afhængig af den omhu, der udvises under pipettering, centrifugering, afpipettering og overholdelse af metode- og temperaturkrav.

Måleområde

Måleområdet er op til 5 µg/L. Koncentrationer for høje prøver fås ved at fortynde med S100 ELISA fortyndingsbuffer og gentage analysen.

Præcision

Serumprøver med forskellig koncentration blev evalueret ved at køre en analyse om dagen over ti arbejdsdage. Intra- og inter-assay-præcision blev bedømt med variansanalyse (ANOVA). Inden for koncentrationsområdet 0,18 til 4 µg/L er den intraserielle imprecision < 10% og den samlede imprecision er < 15%.

Prøve µg/L	Intraseriel variation (CV%)	Interseriell variation (CV%)
0,18	9,4	7,2
0,27	6,6	12,4
0,61	3,8	4,7
1,9	4,4	3,1
2,2	1,9	4,3
4,1	2,9	3,5

Sensitivitet (LDL)

Detektionsgrænsen er 0,03 µg/l (B0+ 3SD).

Linearitet ved fortynding

Linearitet ved fortynding blev bedømt ved at fortynde tre kliniske prøver med S100B-fortyndingsbufferen og analysere dem. Lineariteten ved fortynding udviser et funktionelt analyseområde fra 0,2 µg/L til 4,5 µg/L

Prøve	Fortynding	Beregnet værdi (µg/L)	Recovery %
1	1:1	2,94	100
	1:2	3,03	103
	1:5	3,68	125
	1:10	3,29	112
2	1:1	3,08	100
	1:2	3,49	113
	1:5	3,80	123
	1:10	4,16	135
3	1:1	3,77	100
	1:2	3,76	100
	1:5	3,81	101
	1:10	3,74	99

Indholdsstoffer og krydsreaktivitet

Der fandtes ingen signifikante forskelle i S100B-koncentrationerne efter tilsætning af heparin, heparin/protamin eller Propofol sammenlignet med kontrollerne ved de testede koncentrationer.

Indholdsstoffer testet for potentiel interferens

Testet lægemiddel	Konc. Testet
Heparin	5 IU/mL
Heparin/Protamin	100 IU/mL/10 mg/mL
Propofol	80 µg/mL

Gao, F, Harris, DNF, Sapsed-Byrne, S. Publication Perfusion 1997; 12:163-165

Potentielt interfererende endogene stoffer blev tilsat med følgende slutkoncentrationer: bilirubin: 0,125 µg/mL; triglycerider: 12,5 mg/mL; hæmoglobin 1: 2,5 og 5 mg/mL. For hver test udførtes der dobbeltbestemmelse. Forhøjet hæmoglobin kan påvirke analyseresultaterne.

Interferens fra endogene stoffer

Potentielt interfererende stof	Konc. Testet	Middelværdi i kontroller	Middelværdi i test	Difference	% fejl
Bilirubin	125 µg/mL	0,083	0,090	0,007	8%
Triglycerider	125 µg/mL	0,084	0,083	0,001	2%
Hæmoglobin	1 mg/mL	0,087	0,091	0,004	5%
	2,5 mg/mL	0,087	0,097	0,010	11%
	5 mg/mL	0,087	0,092	0,005	6%

16. Begrænsninger i proceduren

Højdosis Hook-effekt

Op til 3000 µg/L ses der ingen højdosis hook-effekt.

1. AVSEDD ANVÄNDNING

Denna produkt är endast avsedd för FÖR *IN VITRO*-DIAGNOSTIK.

Immunoassay fr kvantitativ bestmning in vitro av S100 i humant serum. S100 r avsett att anvndas som ett hjlpmedel vid behandling av patienter som lider av malignt melanom.

2. TESTPRINCIP

S100 ELISA är en tvåställes, enstegs enzymlänkad immunsorbent assay. I denna assay reagerar kalibratorer, kontroller och okända prover samtidigt med 2 capture-antikroppar i fast tillstånd och en detektorantikropp konjugerad med HRP (horseradish peroxidase) under inkuberingen i mikrotiterbrunnarna. Efter tvättsteget tillsätts en TMB-kromogen (tetrametylbensidin) och reaktionen tillåts fortsätta i 15 minuter. Enzymreaktionen stoppas genom tillsats av en stopplösning och absorbans mäts vid 450 nm.

3. SATSENS INNEHÅLL

Satsen innehåller reagenser för 96 bestämningar.

3.1 Anti-S100B - belagda remsor: reagens klart att användas

1 x 96 mikrotiterbrunnar belagda med 2 monoklonala mus-anti-S-100B antikroppar. Innehåller BSA. Låt remsor och hållare anta rumstemperatur (20-25°C) i foliepåsen, för att skydda brunnar från kondens. Efter de öppnats, försegla på nytt så att de är rätt tillslutna i en omgivning med torkmedel.

OBS: När påsen med remsor först öppnas MÅSTE torkmedelsindikatorn vara blå. Om indikatorn inte är blå ska remsorna inte användas.

3.2 HRP- konjugat: reagens klart att användas

1 x 21 mL, blågrön vätska. Innehåller en monoklonal mus-anti-S100B antikropp konjugerad med HRP, BSA och 0,5 % ProClin 300 som konserveringsmedel.

3.3 Kalibratorer: frystorkat reagens

2 flaskor med vardera 6 kalibratorer. Rekonstituera i 1,0 mL renat vatten. Kalibratorer består av S100 bovin antigen. Kalibrator S100 värdet anges på flaskans etiketter.

3.4 Kontroller: frystorkat reagens

2 flaskor med vardera 2 kontroller. Rekonstituera i 1,0 mL renat vatten. Kontroller består av S100 bovin antigen. Referensområdet avseende resp kontrolls koncentration visas på analyscertifikatet och visar de gränser som fastställts av DiaSorin för de kontrollvärden som erhållits med tillförlitliga test.

3.5 Provspädningsmedel: reagens klart att användas

1 x 10 mL, färglös vätska, klar att användas. Innehåller 0,5 % ProClin 300 som konserveringsmedel.

3.6 Tvättbuffert 10X: vätskelösning

2 x 50 mL, ett PBS-Tween koncentrat. 1X tvättbuffert är hållbar i förvaring vid rumstemperatur (20-25°C), i 5 dagar. **OBS:** Får ej användas om bufferten är grumlig.

3.7 TMB lösning: reagens klar att användas

1 x 16 mL, Buffrat substrat och kromogen, färglös, 0,05 % TMB (3,3', 5,5' tetrametylbensidin). Får ej utsättas för ljus. **OBS:** Får ej användas om det förekommer blått precipitat.

3.8 Stopplösning: reagens klart at användas

1 x 20 mL, färglös vätska. Innehåller 0,4 N svavelsyra. Se avsnittet Varningar och försiktighetsåtgärder.

4. SATSENS HÅLLBARHETSTID OCH FÖRVARING

Satsen är hållbar i 2-8°C tills utgångsdatum på etiketten. Efter de öppnats, förvara alla reagenser vid 2-8°C tills utgångsdatum på etiketten, utom för kalibratorer och kontroller som kan frysas vid -20°C, tinas upp och återanvändas en gång. Använd inte satsen efter utgångsdatum.

5. VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

Denna produkt är endast avsedd för FÖR IN VITRO-DIAGNOSTIK.

Reagens som innehåller 3,3',5,5' tetrametylbensidin

Kromogen: Denna produkt innehåller 3,3',5,5' tetrametylbensidin (TMB) (0,05 %) som har konstaterats ge möjlig mutagen inverkan i laboratorieexperiment.

6. SPÄRBARHET FÖR STANDARDER OCH KONTROLLER

Kalibratorerna och kontrollerna i satsen består av S100B protein. Detta S100B protein kommer från renat och välkaraktiserat bovin hjärnmaterial. Kalibratorer och kontroller kalibreras mot företagsinternt S100B referensmaterial.

7. MATERIAL SOM KRÄVS, MEN EJ TILLHANDAHÅLLS

- Precisionspipetter för 50, 100 och 150 µL.
- Vortex-blandare.
- Renat vatten.
- Plattskakare: 800 varv/min, amplitud 1,5 mm.
- Tvättenhet för mikropettor.
- Möjlighet till ELISA-avläsning av mikropettor vid 450 nm.
- Resultatberäkning: Cubic Spline-algoritm.

8. PROVTAGNING, PROVHANTERING OCH FÖRVARING

- Serum rekommenderas. Använd ej EDTA- eller natriumcitratplasma.
- Provtagning ska göras enligt standardrutiner.
- När blodprov tas, se till att provet inte kontamineras med EDTA eller natriumcitrat. Blodet ska behandlas och serum/plasma tas inom 2–4 tim.
- Förvaring av serumprover vid 2–8 °C: 24 timmar. För längre tids förvaring, frys till under –20 °C. Proverna är hållbara i –20 °C i 6 månader. Fruset serum ska blandas försiktigt, men ordentligt, efter upptining. Undvik upprepade frysnings-upptiningscykler.
- Använd inte prover som är kraftigt lipemiska eller kontaminerade. Prover med utfällning måste centrifugeras före testning. Använd inte prover som är värmeinaktiverade.
- Höga S100B prover (>5 µg/L) kan spädas. S100 ELISA spädningsmedel ska användas för spädnings.

9. FÖRBEREDA REAGENSER FÖRE ANVÄNDNING

- Öppnade reagenser och prover måste anta rumstemperatur (20-25 °C) före användning.
- Kalibratorer: Rekonstituera i 1,0 mL renat vatten. Låt stå i 20 minuter. Blanda försiktigt.
- Kontroller: Rekonstituera i 1,0 mL renat vatten. Låt stå i 20 minuter. Blanda försiktigt.
- 10x tvättbuffert: Späd 1:10 (1x tvättbuffert) med renat vatten.

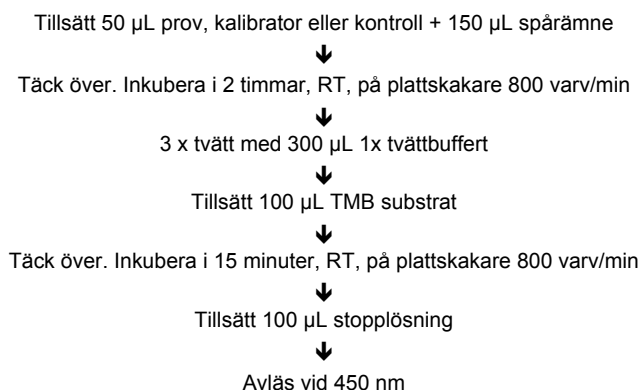
10. FÖRVARING AV REAGENSER EFTER ANVÄNDNING

- Rekonstituerade kalibrаторer och kontroller är hållbara i 90 min. vid rumstemperatur. Om alla kalibrаторer och kontroller inte används direkt kan de frysas vid $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, tinas upp och återanvändas en gång.
- Alla övriga öppnade komponenter ska förvaras vid $2 - 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ i originalbehållare.
- TMB substrat och stopplösning, som tas ur originalflaskor, **måste kasseras**.
- Ny 1x tvättbuffert ska beredas minst en gång var 5:e dag.

11. TESTPROCEDUR

- 11.1 Förebered alla reagenser enligt vad som anges i föregående avsnitt. Blanda proverna i en Vortex-blandare före pipettering. **OBS:** Testet måste startas inom 90 minuter efter rekonstituering av kalibrаторer och kontroller.
- 11.2 Pipettera 50 μL kalibrаторer, kontroller och okända prover i brunnar.
- 11.3 Tillsätt 150 μL konjugat i alla brunnar.
- 11.4 Täck plattan och inkubera i 2 timmar på en plattskakare (800 varv/min) vid rumstemperatur (RT).
- 11.5 Tvätta 3 gånger med 300 μL 1x tvättbuffert. **OBS:** Det kan bli nödvändigt att dekantera prov och konjugat manuellt från plattan före tvättsteget om ett automatiskt platttvättsystem används.
- 11.6 Tillsätt 100 μL TMB substrat i alla brunnar.
- 11.7 Täck plattan och inkubera 15 ± 2 minuter på en plattskakare (800 varv/min) vid rumstemperatur.
- 11.8 Stoppa reaktionen genom att tillsätta 100 μL stopplösning. Tillsätt stopplösningen i samma ordningsföljd och med samma hastighet som användes för TMB substrat.
- 11.9 Avläs absorbans vid 450 nm med avläsare för mikropettor inom 15 minuter.

12. FLÖDESSCHEMA FÖR TEST



13. KVALITETSKONTROLL

Varje laboratorium bör ta med minst en hög och en låg kontroll i varje test för att övervaka testprestanda. Kontrollerna i satsen kan användas för detta ändamål. Satsens kontroller innehåller S100B protein vid både höga och låga koncentrationer och har testats med DiaSorin S100B satsen för att fastställa de förväntade halterna. Referensområdet avseende resp kontrolls koncentration visas på analyscertifikatet och visar de gränser som fastställts av DiaSorin för de kontrollvärden som erhållits med tillförlitliga test. Kontrollerna skall behandlas som okända prover och testas i dubbelprov. För att testresultaten skall betraktas som giltiga måste kontrollresultaten uppfylla laboratoriets kriterier för godkännande.

14. RESULTATBERÄKNING

Tolkning av resultat

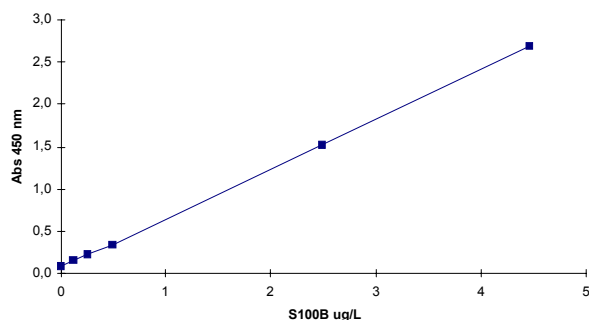
Algoritmen för Cubic Spline-funktioner ska användas för beräkning av resultat. När en avläsare för mikropeltor används med automatisk databeräkning, se instrumentmanualen.

Detta är endast ett exempel och ska inte användas i beräkningar.

Prov	ABS 450 nm	µg/L
KAL A	0,087	0,00
KAL B	0,154	0,12
KAL C	0,221	0,25
KAL D	0,339	0,49
KAL E	1,516	2,49
KAL F	2,692	4,46
KONTROLL L	0,420	0,62
KONTROLL H	1,113	1,65
Prov 1	0,109	0,40
Prov 2	0,389	0,59
Prov 3	1,223	2,03

Standardkurva

Detta är endast ett exempel och ska inte användas i beräkningar.



15. SPECIFIKA PRESTANDA

Referensområde

Gränsvärdet bestämdes till 0,15 µg/L (95 %-kvantilen av 100 blodgivarprover). Varje laboratorium bör dock upprätta en egen övre referensgräns.

Noggrannhet

Noggrannheten på resultaten från denna assay är direkt beroende av noggrannheten vid pipettering, vortexblandning och aspiration samt att krav på metodologi och temperatur följs.

Mätområde

Mätområdet är upp till 5 µg/L. Koncentrationer för höga prover kan bestämmas efter spädning med S100 ELISA spädningsmedel och upprepning av testet.

Precision

Serumprover med olika koncentrationsnivåer utvärderades genom att testa med en assay per dag över tio driftsdagar. Intraseriell och interseriell precision bestämdes med variansanalys (ANOVA). Inom koncentrationsområdet från 0,18 till 4 µg/L, är imprecisionen inom serien < 10 % och total imprecision < 15 %.

Prov µg/L	Intraseriell variation (CV%)	Interseriell variation (CV%)
0,18	9,4	7,2
0,27	6,6	12,4
0,61	3,8	4,7
1,9	4,4	3,1
2,2	1,9	4,3
4,1	2,9	3,5

Känslighet (LDL)

Detektionsgränsen är 0,03 µg/L (B0+ 3SD).

Spädningslinearitet

Spädningslinearitet bestämdes genom att tre kliniska prover späddes med S100B provspädningsmedel och testades. Spädningslinearitet påvisar funktionstestområdet från 0,2 µg/L till 4,5 µg/L.

Prov	Spädning	Beräknat värde (µg/L)	Utbyte %
1	1:1	2,94	100
	1:2	3,03	103
	1:5	3,68	125
	1:10	3,29	112
2	1:1	3,08	100
	1:2	3,49	113
	1:5	3,80	123
	1:10	4,16	135
3	1:1	3,77	100
	1:2	3,76	100
	1:5	3,81	101
	1:10	3,74	99

Föreningar och korsreaktivitet

Inga signifikanta skillnader uppmättes i S100B koncentrationer efter tillsats av heparin, heparin/protamin eller propofol, jämfört med kontrollen vid de koncentrationer som testades.

Föreningar som testats för möjlig interferens

Testad drog/läkemedel	Konc. Testad
Heparin	5 IU/mL
Heparin/Protamin	100 IU/mL/10 mg/mL
Propofol	80 µg/mL

Gao, F, Harris, DNF, Sapsed-Byrne, S. Publication Perfusion 1997; 12:163-165

Möjliga interfererande endogena substanser tillsattes med följande slutkoncentrationer: bilirubin, 0,125 µg/mL; triglycerider, 12,5 mg/mL; hemoglobin 1, 2,5 och 5 mg/mL. Alla testprover testades i duplikatprov. Förhöjt hemoglobin kan påverka provresultaten.

Interferens från endogena substanser

Möjligt interfererandeämne	Konc. Testad	Medelkontroll värde	Medeltest-värde	Skillnad	% Fel
Bilirubin	125 µg/mL	0,083	0,090	0,007	8%
Triglycerider	125 µg/mL	0,084	0,083	0,001	2%
Hemoglobin	1 mg/mL	0,087	0,091	0,00	5%
	2,5 mg/mL	0,087	0,097	0,010	11%
	5 mg/mL	0,087	0,092	0,005	6%

16. Metodbegränsningar

Hög dos hook-effekt

Ingen hög dos hook-effekt konstateras upp till 3000 µg/L.

1. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Το προϊόν αυτό προορίζεται ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

Ανοσολογική δοκιμασία για τον *in vitro* ποσοτικό προσδιορισμό του S100 σε ορό ανθρώπου. Το S100 προορίζεται για χρήση ως βοήθημα στη διαχείριση ασθενών που υποφέρουν από κακήθες μελάνωμα.

2. ΑΡΧΗ ΔΟΚΙΜΗΣ

Το S100 ELISA είναι μια ενζυμική δοκιμή ανοσοπροσρόφησης δύο θέσεων και ενός βήματος. Στον προσδιορισμό, κατά την επώαση στα πηγαδάκια μικροτιτλοδότησης, οι βαθμονομητές, τα υλικά ελέγχου και τα άγνωστα δείγματα αντιδρούν ταυτόχρονα με 2 αντισώματα σύλληψης στερεάς φάσης και με ένα αντίσωμα ανίχνευσης συζευγμένο με υπεροξειδάση χρένου (HRP). Μετά από ένα βήμα πλύσης, προστίθεται χρωμογόνο TMB (τετραμεθυλοβενζιδίνη) και επιτρέπεται στην αντίδραση να συνεχίσει για 15 λεπτά. Η αντίδραση ενζύμου διακόπτεται με την προσθήκη διαλύματος τερματισμού και μετρείται η απορρόφηση στα 450 nm.

3. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΚΙΤ

Το kit περιέχει αντιδραστήρια για 96 προσδιορισμούς.

3.1 Σειρές από πηγαδάκια επικαλυμμένες με αντι-S100B: Αντιδραστήριο έτοιμο για χρήση.

1 x 96 πηγαδάκια μικροτιτλοδότησης επικαλυμμένα με 2 μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού έναντι S100B. Περιέχει BSA. Για να προστατευτούν τα πηγαδάκια από τη συμπύκνωση, αφήστε τις σειρές από πηγαδάκια και την υποδοχή να ισορροπήσουν με τη θερμοκρασία δωματίου (20 έως 25°C) μέσα στην αλουμινένια συσκευασία. Σφραγίστε ξανά τις ανοιγμένες συσκευασίες προκειμένου να εξασφαλίσετε τη σωστή φύλαξη αυτών σε ξηρό περιβάλλον.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Όταν ανοίξετε για πρώτη φορά τη συσκευασία, ο δείκτης ξηρότητας ΠΡΕΠΕΙ να είναι μπλε. Αν ο δείκτης δεν είναι μπλε, μη χρησιμοποιήσετε τις σειρές από πηγαδάκια.

3.2 Συζυγές HRP: Αντιδραστήριο έτοιμο για χρήση.

1 x 21 mL, μπλε-πράσινο υγρό. Περιέχει μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού έναντι του S100B συζευγμένο με HRP, BSA και 0,5% ProClin 300 ως συντηρητικό.

3.3 Βαθμονομητές: Λυόφιλα αντιδραστήρια.

2 φιαλίδια από καθένα από τους 6 βαθμονομητές. Εκτελέστε ανασύσταση σε 1,0 mL κεκαθαρμένου νερού. Οι βαθμονομητές αποτελούνται από βόειο αντιγόνο S100. Η τιμή S100 του βαθμονομητή αναγράφεται στις ετικέτες των φιαλιδίων.

3.4 Υλικά ελέγχου: Λυόφιλα αντιδραστήρια.

2 φιαλίδια από καθένα από τα 2 υλικά ελέγχου. Εκτελέστε ανασύσταση σε 1,0 mL κεκαθαρμένου νερού. Τα υλικά ελέγχου αποτελούνται από βόειο αντιγόνο S100. Το εύρος συγκεντρώσεων κάθε υλικού ελέγχου αναφέρεται στο πιστοποιητικό ανάλυσης και υποδεικνύει τα όρια που έχουν τεθεί από την DiaSorin για τιμές υλικών ελέγχων που μπορεί να ληφθούν σε αξιόπιστους κύκλους προσδιορισμών.

3.5 Αραιωτικό δειγμάτων: Αντιδραστήριο έτοιμο για χρήση.

1 x 10 mL, έτοιμο για χρήση, άχρωμο υγρό. Περιέχει 0,5% ProClin 300 ως συντηρητικό.

3.6 Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 10X: Υγρό διάλυμα.

2 x 50 mL, συμπύκνωμα PBS-Tween. Το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 1X είναι σταθερό για 5 ημέρες όταν φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου (20 έως 25°C). **ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Μη χρησιμοποιήσετε το ρυθμιστικό διάλυμα αν είναι θολό.

3.7 Διάλυμα TMB: Αντιδραστήριο έτοιμο για χρήση.

1 x 16 mL, ρυθμισμένο υπόστρωμα και χρωμογόνο, άχρωμο 0,05% TMB (3,3', 5,5' τετραμεθυλοβενζιδίνη). Προστατεύστε από το φως. **ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Να μη χρησιμοποιηθεί αν παρατηρείται μπλε ίζημα.

3.8 Διάλυμα τερματισμού: Αντιδραστήριο έτοιμο για χρήση.

1 x 20 mL, άχρωμο υγρό. Περιέχει θειικό οξύ 0,4N. Βλ. Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις.

4. ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ ΚΑΙ ΦΥΛΑΞΗ ΚΙΤ

Το κιτ είναι σταθερό έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα όταν φυλάσσεται στους 2 έως 8°C. Μετά το άνοιγμα, φυλάξτε όλα τα αντιδραστήρια στους 2 έως 8°C έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα, εκτός από τους βαθμονομητές και τα υλικά ελέγχου τα οποία μπορείτε να καταψύξετε στους -20°C, να αποψύξετε και να χρησιμοποιήσετε μία ακόμη φορά. Μη χρησιμοποιείτε το κιτ μετά την ημερομηνία λήξης.

5. ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το προϊόν αυτό προορίζεται ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

Τα αντιδραστήρια περιέχουν 3,3',5,5' τετραμεθυλοβενζιδίνη.

Χρωμογόνο: Το προϊόν αυτό περιέχει 0,05% 3,3',5,5' τετραμεθυλοβενζιδίνη (TMB) για την οποία έχει αποδειχθεί πιθανή μεταλλαξιογόνος δράση σε εργαστηριακά πειράματα.

6. ΙΧΝΗΛΑΣΙΜΟΤΗΤΑ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΚΑΙ ΥΛΙΚΩΝ ΕΛΕΓΧΟΥ

Οι βαθμονομητές και τα υλικά ελέγχου του κιτ αποτελούνται από πρωτεΐνη S100B. Αυτή η πρωτεΐνη S100B προέρχεται από κεκαθαρισμένο και καλώς χαρακτηρισμένο υλικό βόειου εγκεφάλου. Οι βαθμονομητές και τα υλικά ελέγχου έχουν βαθμονομηθεί με εσωτερικό υλικό αναφοράς S100B.

7. ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ, ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- Πιπέτες ακρίβειας για 50, 100 και 150 μ L.
- Όργανο περιδίνησης (vortex).
- Κεκαθαρισμένο νερό.
- Συσκευή ανακίνησης μικροπλακών: 800 σ.α.λ., πλάτος 1,5 mm.
- Συσκευή πλύσης μικροπλακών.
- Συσκευή ανάγνωσης μικροπλακών ELISA με δυνατότητα ανάγνωσης στα 450nm.
- Υπολογισμός αποτελεσμάτων: Αλγόριθμος κυβικού spline.

8. ΣΥΛΛΟΓΗ, ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΚΑΙ ΦΥΛΑΞΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

- Συνιστάται η χρήση ορού. Μη χρησιμοποιείτε πλάσμα EDTA ή κιτρικού νατρίου.
- Συλλέξτε δείγματα χρησιμοποιώντας τυπικές διαδικασίες.
- Κατά την αιμοληψία, βεβαιωθείτε ότι το δείγμα δεν έχει μολυνθεί με EDTA ή κιτρικό νάτριο. Η επεξεργασία του αίματος και η συλλογή ορού/πλάσματος θα πρέπει να γίνει εντός 2 έως 4 ωρών.
- Φύλαξη των δειγμάτων ορού στους 2 έως 8°C: 24 ώρες. Για μεγαλύτερους χρόνους φύλαξης, καταψύξτε σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από -20°C. Τα δείγματα είναι σταθερά στους -20°C για 6 μήνες. Ο καταψυγμένος ορός θα πρέπει να αναμειγνύεται απαλά, αλλά καλά, μετά την απόψυξή του. Αποφύγετε τους επαναλαμβανόμενους κύκλους ψύξης-απόψυξης.
- Μη χρησιμοποιείτε δείγματα που είναι υπερβολικά λιπαιμικά ή μολυσμένα. Θα πρέπει να φυγοκεντρήσετε τα δείγματα που περιέχουν ίζημα πριν από τη δοκιμασία. Μη χρησιμοποιείτε δείγματα που έχουν αδρανοποιηθεί με θερμότητα.
- Μπορείτε να αραιώσετε τα δείγματα με υψηλή συγκέντρωση S100B (>5 μ g/L). Για την αραιώση θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί αραιωτικό S100 ELISA.

9. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ ΠΡΙΝ ΑΠΟ ΤΗ ΧΡΗΣΗ

- Πριν από τη χρήση, αφήστε τα αντιδραστήρια που δεν έχουν ανοιχτεί και τα δείγματα να φτάσουν σε θερμοκρασία δωματίου (20 έως 25°C).
- Βαθμονομητές: Εκτελέστε ανασύσταση σε 1,0 mL κεκαθαρμένου νερού. Αφήστε ακίνητους για 20 λεπτά. Αναμίξτε προσεκτικά.
- Υλικά ελέγχου: Εκτελέστε ανασύσταση σε 1,0 mL κεκαθαρμένου νερού. Αφήστε ακίνητα για 20 λεπτά. Αναμίξτε προσεκτικά.
- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 10x: Αραιώστε 1:10 (ρυθμιστικό διάλυμα 1X) με κεκαθαρμένο νερό.

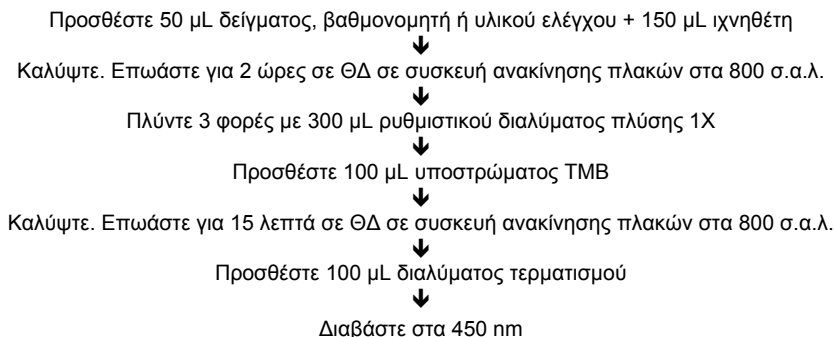
10. ΦΥΛΑΞΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ ΜΕΤΑ ΤΗ ΧΡΗΣΗ

- Οι ανασυσταμένοι βαθμονομητές και τα υλικά ελέγχου είναι σταθερά για 90 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Σε περίπτωση που δεν χρησιμοποιήσετε αμέσως τους βαθμονομητές και τα υλικά ελέγχου, μπορείτε να τα καταψύξετε στους -20°C, να τα αποψύξετε και να τα χρησιμοποιήσετε μία ακόμη φορά.
- Μπορείτε να φυλάξετε όλα τα υπόλοιπα συστατικά που δεν έχετε χρησιμοποιήσει στους 2 έως 8°C στους αρχικούς περιέκτες τους.
- **Θα πρέπει να απορρίψετε το υπόστρωμα TMB και το διάλυμα τερματισμού που έχετε βγάλει από το αρχικό φιαλίδιό τους.**
- Θα πρέπει να προετοιμάζετε φρέσκο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης 1X τουλάχιστον μία φορά κάθε 5 ημέρες.

11. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

- 11.1 Προετοιμάστε όλα τα αντιδραστήρια όπως περιγράφεται στην προηγούμενη παράγραφο. Αναμίξτε τα δείγματα σε συσκευή περιδίνησης (vortex) πριν τη διανομή τους με πιπέτα. **Σημείωση:** Θα πρέπει να ξεκινήσετε τη δοκιμασία εντός 90 λεπτών από την ανασύσταση των βαθμονομητών και των υλικών ελέγχου.
- 11.2 Διανείμετε με πιπέτα στα πηγαδάκια 50 μ L βαθμονομητών, υλικών ελέγχου και αγνώστων δειγμάτων.
- 11.3 Προσθέστε 150 μ L συζυγούς σε όλα τα πηγαδάκια.
- 11.4 Καλύψτε την πλάκα και επωάστε για 2 ώρες σε συσκευή ανακίνησης πλακών (800 σ.α.λ.) σε θερμοκρασία δωματίου (ΘΔ).
- 11.5 Πλύντε 3 φορές με 300 μ L ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 1X. **Σημείωση:** Σε περίπτωση που δεν χρησιμοποιείτε αυτοματοποιημένο σύστημα πλύσης πλακών, ενδεχομένως να είναι απαραίτητο να αδειάσετε το δείγμα και το συζυγές από την πλάκα με το χέρι πριν από το βήμα πλύσης.
- 11.6 Προσθέστε 100 μ L υποστρώματος TMB σε όλες τα πηγαδάκια.
- 11.7 Καλύψτε την πλάκα και επωάστε για 15 ± 2 λεπτά σε συσκευή ανακίνησης πλακών (800 σ.α.λ.) σε θερμοκρασία δωματίου.
- 11.8 Σταματήστε την αντίδραση με προσθήκη 100 μ L διαλύματος τερματισμού. Προσθέστε το διάλυμα τερματισμού με την ίδια σειρά και ταχύτητα που χρησιμοποιήσατε όταν προσθέσατε το υπόστρωμα TMB.
- 11.9 Εντός 15 λεπτών, διαβάστε την απορρόφηση στα 450 nm με χρήση συσκευής ανάγνωσης μικροπλάκας.

12. ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΡΟΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ



13. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Σε κάθε προσδιορισμό, κάθε εργαστήριο θα πρέπει να περιλαμβάνει τουλάχιστον ένα υλικό ελέγχου υψηλής συγκέντρωσης και ένα χαμηλής συγκέντρωσης για να γίνεται η παρακολούθηση της απόδοσης του προσδιορισμού. Για το σκοπό αυτό, μπορείτε να χρησιμοποιήσετε τα υλικά ελέγχου που παρέχονται με το kit. Τα υλικά ελέγχου του kit περιέχουν πρωτεΐνη S100B σε υψηλές και χαμηλές συγκεντρώσεις, ενώ έχει γίνει προσδιορισμός της με το kit S100B της DiaSorin για τον καθορισμό των αναμενόμενων περιοχών τιμών. Το εύρος συγκεντρώσεων κάθε υλικού ελέγχου αναφέρεται στο πιστοποιητικό ανάλυσης και υποδεικνύει τα όρια που έχουν τεθεί από την DiaSorin για τιμές υλικών ελέγχων που μπορεί να ληφθούν σε αξιόπιστους κύκλους προσδιορισμών. Ο χειρισμός των υλικών ελέγχου θα πρέπει να γίνεται έως εάν ήταν άγνωστα δείγματα και ο προσδιορισμός τους θα πρέπει να γίνεται δύο φορές. Οι προσδιορισμοί θα πρέπει να θεωρούνται έγκυροι μόνο σε περίπτωση που τα αποτελέσματα ικανοποιούν τα κριτήρια αποδοχής του εκάστοτε εργαστηρίου.

14. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

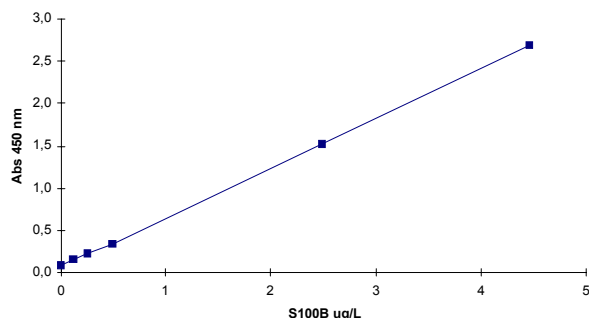
Για τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων, θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί ο αλγόριθμος κυβικού spline. Όταν χρησιμοποιείτε συσκευή ανάγνωσης μικροπλακών με αυτόματο υπολογισμό δεδομένων, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήσης του οργάνου.

Το παρακάτω αποτελεί μόνο ένα παράδειγμα και δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται για τους υπολογισμούς.

Δείγμα	Απορρόφηση στα 450 nm	µg/L
CAL A	0,087	0,00
CAL B	0,154	0,12
CAL C	0,221	0,25
CAL D	0,339	0,49
CAL E	1,516	2,49
CAL F	2,692	4,46
CONTROL L	0,420	0,62
CONTROL H	1,113	1,65
Δείγμα 1	0,109	0,40
Δείγμα 2	0,389	0,59
Δείγμα 3	1,223	2,03

Πρότυπη καμπύλη

Το παρακάτω αποτελεί μόνο ένα παράδειγμα και δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται για τους υπολογισμούς.



15. ΕΙΔΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Περιοχή τιμών αναφοράς

Η τιμή αποκλεισμού υπολογίστηκε ίση με 0,15 $\mu\text{g/L}$ (το 95ο εκατοστημόριο από 100 δείγματα αιμοδοτών). Ωστόσο, κάθε εργαστήριο θα πρέπει να υπολογίσει το δικό του άνω όριο αναφοράς.

Ορθότητα

Η ορθότητα των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού αυτού σχετίζεται άμεσα με το βαθμό προσοχής που ασκείται κατά τη διανομή των αντιδραστηρίων με πιπέτα, την περιδίνηση (vortex), την αναρρόφηση και την τήρηση της μεθοδολογίας και των θερμοκρασιακών απαιτήσεων.

Περιοχή τιμών μέτρησης

Η περιοχή τιμών μέτρησης φτάνει τα 5 $\mu\text{g/L}$. Μπορείτε να μετρήσετε τις συγκεντρώσεις των δειγμάτων υψηλής συγκέντρωσης με την αραιώσή τους με αραιωτικό S100 ELISA και την επανάληψη του προσδιορισμού.

Ακρίβεια

Εκτιμήθηκαν δείγματα ορού διαφορετικών συγκεντρώσεων με εκτέλεση ενός προσδιορισμού κάθε ημέρα για δέκα εργάσιμες ημέρες. Υπολογίστηκαν η ακρίβεια για τον ίδιο προσδιορισμό και η ακρίβεια για σειρά προσδιορισμών με ανάλυση της διακύμανσης (ANOVA). Εντός μιας περιοχής συγκεντρώσεων που κυμαίνονται από 0,18 έως 4 $\mu\text{g/L}$, η ανακρίβεια για την ίδια εκτέλεση είναι < 10%, ενώ η συνολική ανακρίβεια είναι < 15%.

Δείγμα $\mu\text{g/L}$	Διακύμανση για τον ίδιο προσδιορισμό ($\Sigma.\Delta.$ %)	Διακύμανση μεταξύ σειράς προσδιορισμών ($\Sigma.\Delta.$ %)
0,18	9,4	7,2
0,27	6,6	12,4
0,61	3,8	4,7
1,9	4,4	3,1
2,2	1,9	4,3
4,1	2,9	3,5

Ευαισθησία (κάτω όριο ανίχνευσης)

Το όριο ανίχνευσης είναι 0,03 $\mu\text{g/L}$ ($B0 + 3T.A.$).

Γραμμικότητα αραίωσης

Η γραμμικότητα αραίωσης υπολογίστηκε με αραίωση τριών κλινικών δειγμάτων με αραιωτικό δειγμάτων S100B και τον προσδιορισμό τους. Η γραμμικότητα αραίωσης αποδεικνύει μια λειτουργική περιοχή τιμών προσδιορισμού που κυμαίνονται από 0,2 µg/L έως 4,5 µg/L.

Δείγμα	Αραίωση	Υπολογισμένη τιμή (µg/L)	Ανάκτηση %
1	1:1	2,94	100
	1:2	3,03	103
	1:5	3,68	125
	1:10	3,29	112
2	1:1	3,08	100
	1:2	3,49	113
	1:5	3,80	123
	1:10	4,16	135
3	1:1	3,77	100
	1:2	3,76	100
	1:5	3,81	101
	1:10	3,74	99

Ουσίες και διασταυρούμενη αντιδραστικότητα

Δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές στα επίπεδα συγκέντρωσης S100B μετά την προσθήκη ηπαρίνης, ηπαρίνης/πρωταμίνης ή proprofol σε σύγκριση με το υλικό ελέγχου στις συγκεντρώσεις που δοκιμάστηκαν.

Ουσίες που δοκιμάστηκαν για πιθανή παρεμβολή

Φάρμακο που δοκιμάστηκε	Συγκέντρωση που δοκιμάστηκε
Ηπαρίνη	5 IU/mL
Ηπαρίνη/Πρωταμίνη	100 IU/mL/10 mg/mL
Proprofol	80 µg/mL

Gao, F, Harris, DNF, Sapsed-Byrne, S. Publication Perfusion 1997; 12:163-165

Προστέθηκαν ενδογενείς ουσίες με πιθανότητα παρεμβολής στις ακόλουθες τελικές συγκεντρώσεις: χολερυθρίνη, 0,125 µg/mL, τριγλυκερίδια, 12,5 mg/mL, αιμοσφαιρίνη 1, 2,5 και 5 mg/mL. Έγινε προσδιορισμός κάθε δείγματος δοκιμής εις διπλούν. Τα αυξημένα επίπεδα αιμοσφαιρίνης ενδεχομένως να επηρεάσουν τα αποτελέσματα του δείγματος.

Παρεμβολή με ενδογενείς ουσίες

Πιθανή παρεμβαλλόμενη ουσία	Συγκέντρωση που δοκιμάστηκε	Μέση τιμή υλικού ελέγχου	Μέση τιμή δοκιμής	Διαφορά	% Σφάλμα
Χολερυθρίνη	125 µg/mL	0,083	0,090	0,007	8%
Τριγλυκερίδια	125 µg/mL	0,084	0,083	0,001	2%
Αιμοσφαιρίνη	1 mg/mL	0,087	0,091	0,004	5%
	2,5 mg/mL	0,087	0,097	0,010	11%
	5 mg/mL	0,087	0,092	0,005	6%

16. Περιορισμοί διαδικασίας

Φαινόμενο «αγκίστρου» υψηλής δόσης

Δεν παρατηρείται επίδραση «αγκίστρου» υψηλής δόσης έως τα 3000 µg/L.

**REFERENCES/LITERATUR/RÉFÉRENCES/BIBLIOGRAFIA/REFERENCIAS/
REFERÊNCIAS/REFERENCE/REFERENSER/BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ**

1. Abraha, H.D., et al., Serum S-100 Protein: a Potentially useful Prognostic marker in cutaneous melanoma, **Br. J. Dermatol.**, 1997; 137: 381-385.
2. Abraha, H.D., et al., Serum S-100 Protein, Relationship to Clinical Outcome in Acute Stroke, **Ann. Clin. Biochem.**, 1997; 34: 366-370.
3. Blomquist, S., et al., The Appearance of S-100 Protein in Serum During and Immediately After Cardiopulmonary Bypass Surgery: A Potential Marker for Cerebral Injury, **J. Cardiothorac. Vasc. Anaesth.**, 1997; 11: 699-703.
4. Bonfrère, J.M.G., et al., The Luminescence Immunoassay S-100B: A Sensitive Test to Measure Circulating S-100B: Its Prognostic Value in Malignant Melanoma, **Br. J. Cancer.**, 1998; 77: 2210-2214.
5. Cho, K.M., et al., Immunohistochemical Study of Melanocytic Nevus and Malignant Melanoma With Monoclonal Antibodies Against S-100 Subunits, **Cancer**, 1990; 66: 765-771.
6. Djureen-Mårtensson, E., et al., Serum S-100B Protein as a Prognostic Marker in Malignant Cutaneous Melanoma, **J. Clin. Oncol.**, 2001; 19: 824-831.
7. Gaynor, R., et al. S-100 protein: a marker for human malignant melanomas, **Lancet** 1981; 1: 869-871.
8. Haglid, K., et al. An Immunological Study of Human Brain Tumours Concerning the Brain Specific Proteins S-100 and 14.3.2., **Acta Neuropathol.**, 1973; 24: 187-196.
9. Hauschild, A., et al., Predictive Value of Serum S-100B for Monitoring Patients with Metastatic Melanoma During Chemotherapy and/or Immunotherapy, **Br. J. Dermatol.**, 1999; 140: 1065-1071.
10. Hauschild, A., et al., Prognostic Significance of Serum S100B Detection Compared with Routine Blood Parameters in Advanced Metastatic Melanoma Patients, **Melanoma. Res.**, 1999; 9: 155-161.
11. Hauschild, A., et al., S-100B Protein Detection in Serum is a Significant Prognostic Factor in Metastatic Melanoma, **Oncology**, 1999; 56: 383-344.
12. Heizmann, C.W., et al., S100 Proteins: Structure, Functions and Pathology, **Front Biosci.**, 2002; 7: 1356-1368.
13. Henze, G., et al., Serum S-100 – A Marker for Disease Monitoring in Metastatic Melanoma, **Dermatol.**, 1997; 194: 208-212.
14. Hidaka, H., et al., Purification and Characterization of Adipose Tissue S-100B Protein, **J. Biol. Chem.**, 1985; 258: 2705-2709.
15. Ingebrigtsen, T., et al., Increased Serum Levels of Protein S-100 After Minor Head Injury: A Biochemical Serum Marker with Prognostic Value? **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**, 1995; 59: 103-104.
16. Ingebrigtsen, T., et al., Serial S-100 Protein Serum Measurements Related to Early Magnetic Resonance Imaging after Head Injury, **J. Neurosurg.**, 1996; 85: 945-948.
17. Ingebrigtsen T et al. Management of Minor Head Injury: The Value of Early Computed Tomography and Serum Protein S-100 Measurements, **J. Clin. Neurosci.**, 1997; 4: 29-33.
18. Ishiguro, Y., et al., Determination of Three Enolase Iso- Enzymes and S-100 Protein in Various Tumors in Children, **Cancer Res.**, 1983; 43: 6080-6084.
19. Isobe, T., et al., S-100aa Protein is Present in Neurons of Central and Peripheral Nervous System, **J. Neurochem.**, 1984; 43: 1494-1496.
20. Jury, C.S., et al., Rising Levels of Serum S100 Protein Precede Other Evidence of Disease Progression in Patients with Malignant Melanoma, **Br. J. Dermatol.**, 2000; 143: 269-274.

21. Jönsson, H., et al., Significance of S-100 Release After Coronary Artery Bypass Grafting, **Ann. Thorac. Surg.**, 1998; 65: 1639-16442.
22. Kato, K. and Kimura, S., S-100 α (aa) Protein is Mainly Located in the Heart and Striated Muscles, **Biochim Biophys. Acta**, 1985; 842: 146–150.
23. Krähn, G., et al., S100b is a More Reliable Tumor Marker in Peripheral Blood for Patients with Newly Occurred Melanoma Metastases Compared with MIA, Albumin and Lactate-Dehydrogenase, **Anticancer Res.**, 2001; 21: 1311–1316.
24. Nakajima, et al., An Immunoperoxidase Study of S-100B Protein Distribution in Normal and Neoplastic Tissues. **Am .J. Pathol.**, 1984; 116: 497-503.
25. Rosén, H., et al., Increased Serum Levels of the S-100 Protein are Associated with Hypoxic Brain Damage after Cardiac Arrest, **Stroke**, 1998; 29: 473-477.
26. Schultz, E.S., et al., Clinical and Prognostic Relevance of Serum S-100B Protein in Malignant Melanoma, **Br. J. Dermatol.**, 1998; 138: 426-430.
27. Semba, R., et al., Purification of S-100 Protein from Rat Kidney, **Brain Res.**, 1987; 401: 9–13.
28. Stefansson, K., et al., S-100 Protein in Tissue Tumors Derived from Schwann Cells and Melanocytes, **Pathol.**, 1982; 106: 261–268.
29. Stefansson, K., et al., S-100 Protein in Human Chondro- Cytes., **Nature**, 1982; 295: 63–64.
30. Weiss, S., et al., Value of S-100 Protein in the Diagnosis of Soft Tissue Tumors with Particular Reference to Benign and Malignant Schwann Cell Tumors. **Lab. Invest.**, 1983; 49: 299–308.
31. Westaby, S., et al., Serum S-100 Protein: A Potential Marker for Cerebral Events During Cardiopulmonary Bypass. **Ann. Thorac. Surg.**, 1996 ; 61: 88–92.
32. Wunderlich, M.T., et al. The Early Neurobehavioural Out- Come neurobehavioural Outcome After Stroke is Related to the Release of Neurobiochemical Markers for Brain Damage. **Stroke**, 1999; 30: 1190-1195.
33. Zimmer, D., et al. The S-100 Protein Family: History, Function and expression, **Brain Res. Bull.**, 1995; 37: 417–429.

The data presented in this instruction booklet has been carefully compiled from our records and from the scientific literature and we believe them to be accurate and reliable. We do not, however, give any warranties or make any representations with respect hereto, nor is freedom from any patent to be inferred.

Die in dieser Gebrauchsinformation verwendeten Daten wurden sorgfältig aus unseren Unterlagen und wissenschaftlichen Publikationen zusammengestellt. Für ihre Genauigkeit und Zuverlässigkeit kann keine Haftung übernommen werden. Verwendete Patente wurden nicht extra gekennzeichnet, auf eine Freistellung hiervon darf jedoch nicht geschlossen werden.

Les données présentées dans ce mode d'emploi sont une compilation soignée de nos observations et de la littérature scientifique et nous les considérons exactes et fiables. Cependant, nous ne donnons aucune garantie ni interprétation à ce sujet, ni n'excluons la possibilité que ces informations puissent faire l'objet de brevets.

I dati riportati in questo libretto di istruzioni sono stati ricavati dai nostri esperimenti e dalla letteratura scientifica e vengono da noi considerati accurati ed affidabili. In ogni modo non viene fornita alcuna garanzia per quanto riguarda la riproduzione dei dati. Nè escludiamo la possibilità che questi informazioni siano oggetto di brevetti.

Los datos presentados en este folleto de instrucciones han sido cuidadosamente recopilados a partir de nuestros registros y de textos científicos, y consideramos que son precisos y fiables. No obstante, no ofrecemos ninguna garantía ni realizamos ninguna aseveración respecto a los anteriores, ni se debe inferir que estén libres de ninguna patente.

Os dados apresentados neste livrete de instruções foram compilados a partir dos nossos experimentos e da literatura científica e são por nós considerados acurados e fiáveis. De todos os modos, não é fornecida nenhuma garantia no que se refere à reprodução dos dados, nem excluimos a possibilidade de que estas informações possam ser objecto de patentes.

Datamaterialet vist i denne instruktionsfolder er grundigt udarbejdet ud fra vores optegnelser og videnskabelige litteratur, og vi mener, at det er nøjagtigt og pålideligt. Vi afgiver dog ingen garantier eller anbringender desangående, og der kan ej heller udledes nogen form for patentfrihed.

Data som beskrivs i denna bruksanvisning har omsorgsfullt sammanställts från egen information och från vetenskaplig litteratur och dess riktighet och tillförlitlighet har kontrollerats. Vi kan dock inte garantera informationens tillförlitlighet och inte heller frihet från patenträttigheter.

Τα στοιχεία που παρουσιάζονται σε αυτό το φυλλάδιο οδηγιών συγκεντρώθηκαν με προσοχή από τα αρχεία μας και την επιστημονική βιβλιογραφία και πιστεύουμε ότι είναι ακριβή και αξιόπιστα. Ωστόσο, δεν παρέχουμε εγγυήσεις ούτε αντιπροσωπεύσεις σχετικά με όσα αναφέρονται στο παρόν και ούτε πρέπει να εκληφθεί ως δεδομένη η εξαίρεση από οποιαδήποτε ευρεσιτεχνία.

SYMBOLS USED WITH DEVICES

	English	Français	Deutsch	Español	Italiano
	European Conformity	Conformité aux normes européennes	CE – Konformitätskennzeichnung	Conformidad europea	Conformità europea
	Expiration Date	Date limite d'utilisation	Mindesthaltbarkeitsdatum	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Manufacturer	Fabricant	Hersteller	Fabricante	Fabbricante
	Consult Instructions for Use	Consulter les instructions d'utilisation	Gebrauchsanweisung beachten	Consulte las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso
IVD	In vitro diagnostic.	Diagnostic in vitro.	In-vitro-Diagnostikum.	Diagnóstico in vitro.	Diagnostica in vitro.
	Temperature limitation.	Limitation de température.	Temperaturbereich	Limitación de temperatura	Limite della temperatura
SORB	Solid phase (Coated beads)	Phase solide (Billes enduites)	Festphase (Beschichtete Kügelchen)	Fase sólida (Percas recubiertas)	Fase solida (/Perle con rivestimento)
DIL SPE	Sample Diluent	Diluant d'échantillon	Proben-Diluent	Diluyente de muestras	Diluente campione
Ab 	Tracer: antibody labelled with ¹²⁵ I	Traceur : anticorps marqué à l'iode ¹²⁵	Tracer: ¹²⁵ I-markierter Antikörper	Trazador: anticuerpo etiquetado con ¹²⁵ I	Tracciatore: anticorpo etichettato con ¹²⁵ I
CAL	Calibrator	Étalon	Kalibrator	Calibrador	Calibratore
CONTROL	Control serum	Sérum de contrôle	Kontrollserum	Suero de control	Siero di controllo

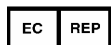
SYMBOLS USED WITH DEVICES CONTINUED ON NEXT PAGE.

CONTINUED FROM PREVIOUS PAGE - SYMBOLS USED WITH DEVICES

	Português	Dansk	Svenska	Ελληνικά
	Conformidade Europeia	Europæisk øverensstømmeise	Europeisk øverensstømmeise	Ευρωπαϊκή Συμμόρφωση
	Prazo de validade	Udløbsdato	Utgångsdatum	Ημερομηνία Λήξης
	Fabricante	Producent	Tilverkare	Κατασκευαστής
	Consultar as instruções de utilização	Se brugsanvisning	Se bruksanvisningen	Συμβουλευτείτε τις Οδηγίες Χρήσης
IVD	Diagnóstico in vitro	In vitro diagnostik.	Diagnostik in vitro.	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν.
	Limites de Temperatura	Temperaturgrænse	Temperatur- begrænsning.	Περιορισμοί θερμοκρασίας
SORB	Fase sólida (poços revestidos)	Fast fase (Coatede slanger)	Solid fas (Belagda strångar)	Στερεή φάση (/Επικαλυμμένες χάντρες)
DIL SPE	Diluyente da Amostra	Fortyndingsvæske, prøve	Provutspådningsmedel	Αραιωτικό δείγματος
Ab ¹²⁵ I	Anticorpo marcado com ¹²⁵ I	Tracer: antistof mærket med ¹²⁵ I	Spårelement: antikropp betecknad med ¹²⁵ I	Ιχνηθέτης: Αντίσωμα σημασμένο με ¹²⁵ I
CAL	Calibrador	Kalibrator	Kalibrator	Βαθμονομητής
CONTROL	Soro Controlo	Kontrolserum	Kontrollserum	Ορός μάρτυρα



DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue
P.O. Box 285
Stillwater, MN 55082-0285



DiaSorin S.p.A.,
13040 Saluggia (VC) Italy

Phone: 651-439-9710
FAX: 651-351-5669

For Customer Service in the
U.S. and Canada Call Toll Free:
800-328-1482

In the United Kingdom Call:
+44(0) 1344 401 430
FAX: +44(0) 7884 050812

13534

34753
8/10

PRINTED IN U.S.A.

