Arbeitsanleitung/Manual

Thymosin α_1 ELISA Kit

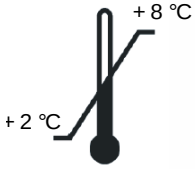
Zur in vitro Bestimmung von Thymosin α_1 in Serum und Thymusextrakt

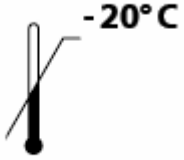
For the in vitro determination of Thymosin α_1 in serum and thymus extract

Nur zu wissenschaftlichen Zwecken / For research use only

Gültig ab / Valid from 18.12.2007

K 9510





1.AB

Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, D 64625 Bensheim
Tel.: ++49 6251 70190-0
Fax: ++ 49 6251 849430
e.mail: Info@immundiagnostik.com
www.Immundiagnostik.com

Inhaltsverzeichnis Seite/Page
Table of content 2

1. VERWENDUNGSZWECK 1

2. EINLEITUNG 1

3. TESTPRINZIP 1

4. INHALT DER TESTPACKUNG 2

5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL 2

6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN 3

7. HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN 4

8. PROBENVORBEREITUNG 4

9. TESTDURCHFÜHRUNG 4

HINWEISE 4
VORINKUBATION 5
PIPPETTIERSCHEMA 5

10. ERGEBNISSE 6

MUSTEREICHKURVE 6

11. EINSCHRÄNKUNGEN 7

12. QUALITÄTSKONTROLLE 7

ERWARTETE ERGEBNISSE 7

13. REFERENZEN 8

14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST 8

Table of content Page

1. INTENDED USE 11

2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST 11

3. PRINCIPLE OF THE TEST 11

4. MATERIAL SUPPLIED 12

5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED 12

6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS 13

7. PRECAUTIONS 14

8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION 14

9. ASSAY PROCEDURE 14

PROCEDURAL NOTES 14
PREINCUBATION 15
TEST PROCEDURE 15

10. RESULTS 16

TYPICAL CALIBRATION CURVE 16

11. LIMITATIONS 17

12. QUALITY CONTROL 17

EXPECTED VALUES 17

13. REFERENCES 18

15. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE 18

1. VERWENDUNGSZWECK

Der hier beschriebene Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA) Kit ist für die Bestimmung von **Thymosin α_1** in Serum und Thymusextrakt geeignet. Nur zu wissenschaftlichen Zwecken.

2. EINLEITUNG

Thymosin α_1 war das erste Einzelpeptid, das aus der Thymusfraktion 5 isoliert wurde. Es wirkt auf die T-Helfer- und NK-Zellen. Außerhalb des Immunsystems sind Einflüsse auf Hypothalamus-regulatorische Hormone beschrieben (1). Das Thymosin α_1 hat sich in tierexperimentell induzierten Tumormodellen bei Lebermetastasen nach Kolonkarzinom (2) oder Leukämien (3) bewährt. In humanen Modellen u.a bei Kolonkarzinom (4) wird es als Prognosefaktor diskutiert. Thymosin α_1 wird ferner bei Bronchialkarzinom im Rahmen einer kombinierten Chemotherapie erfolgreich eingesetzt (5).

Indikationen:

- Immunstörungen
- Kontrolle des Immustatus in Verbindung mit einer Chemotherapie
- Störungen des Endokriniums
- Qualitätskontrolle von Thymuspräparaten

3. TESTPRINZIP

In dem vorliegenden Enzymimmunoassay zur Bestimmung von Thymosin α_1 ($T\alpha_1$) werden polyklonale Kaninchenantikörper gegen synthetisches $T\alpha_1$ eingesetzt. Das Testprinzip beruht auf einer Kompetitionsreaktion zwischen dem freien Antigen der Probe und dem immobilisierten Antigen auf der Mikrotiterplatte. Die Detektion und Quantifizierung erfolgt über einen Peroxidase-markierten Sekundärantikörper und der entsprechenden Substratumsetzung.

4. INHALT DER TESTPACKUNG

Art.l Nr.	Inhalt	Kit Komponenten	Menge
K 9510MTP	PLATE	Mikrotitermodul, vorbeschichtet	12 x 8 Vertiefungen
K 9510WP	WASHBUF	ELISA Waschpufferkonzentrat 10x	100 ml
K 9510A	AB	Antikörper (Kaninchen anti-Thymosin α1), gebrauchsfertig	3 x 3.5 ml
K 9510K	CONJ	Konjugat (Ziege-anti-Kaninchen, Peroxidase-markiert), gebrauchsfertig	22 ml
K 9510SV	STDBUF	Standardverdünnungspuffer, gebrauchsfertig	50 ml
K 9510ST	STD	Standardkonzentrat, lyophilisiert	3 x 1 vial
K 9510TMB	SUB	TMB Substrat (Tetramethylbenzidin), gebrauchsfertig	2 x 15 ml
K 9510AC	STOP	ELISA Stopplösung, gebrauchsfertig	1 x 15 ml

5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Bidestilliertes Wasser (aqua bidest.)
- Präzisionspipetten und Pipettenspitzen für den Einmalgebrauch mit variablen Volumina von 5 - 1000 µl
- Folie zum Abkleben der Mikrotiterplatte
- Mikrotiterplattenschüttler
- Multikanal- bzw. Multipipette
- Zentrifuge, 3000 x g
- Vortex-Mixer
- Laborübliche Glas- oder Plastikröhrchen (Einmalartikel)
- Mikrotiterplattenphotometer mit Filter 450 oder 405 nm (Referenzfilter 620 oder 690 nm)

6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Bitte achten Sie bei mehrfachem Einsatz der Platte darauf, dass die Reagenzien, wie in der Vorschrift beschrieben, gelagert und **nur die für den jeweiligen Ansatz benötigten Reagenzienmengen frisch angesetzt werden**. Der Kit kann so bis zu 2x je nach Probenaufkommen bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden.
- Reagenzien mit einem **Volumen kleiner 100 µl** sollten vor Gebrauch zentrifugiert werden, um Volumenverluste zu vermeiden.
- Der **WASHBUF** (Waschpufferkonzentrat) muss vor Gebrauch **1:10** in bidestilliertem Wasser (aqua bidest.) verdünnt werden (100 ml WASHBUF + 900 ml aqua bidest), gut mischen. Aufgrund der hohen Salzkonzentration in den Stammlösungen kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich im Wasserbad bei 37 °C auf. Der **WASHBUF** kann bei **2-8°C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum aufbewahrt werden. Die **verdünnte Pufferlösung** ist bei **2-8 °C einen Monat** in einem geschlossenen Gefäß haltbar.
- Der **AB** (Antikörper) ist gebrauchsfertig. Er kann bis zu 4 Wochen bei 2-8°C gelagert werden. Zur Langzeitlagerung muss der Antikörper bei –20°C eingefroren werden.
- Alle anderen Testreagenzien sind bei **2-8 °C** zu lagern und bei entsprechender Lagerung bis zum angegebenen Verfallsdatum (siehe Etikett) verwendbar.
- Das **STD** (Standardkontentrat; 1000 ng/ml) wird mit **1 ml STDBUF** (Standardverdünnungspuffer) rekonstituiert. Die Standardkurve kann wie fogt in einer 1:4 Verdünnungsreihe hergestellt werden:

				S1 (1000 ng/ml)
200 µl S1	+	**600 µl** Puffer	= **S2**	**(250 ng/ml)**
200 µl S2	+	**600 µl** Puffer	= **S3**	**(62 ng/ml)**
200 µl S3	+	**600 µl** Puffer	= **S4**	**(16 ng/ml)**
200 µl S4	+	**600 µl** Puffer	**= S5**	**(4 ng/ml)**

Als Standard 0 pg/ml wird Verdünnungspuffer verwendet.

7. HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

- Das für Kitkomponenten verwendete humane Material wurde auf HIV, Hepatitis B und Hepatitis C getestet und für negativ befundet. Dennoch wird empfohlen, die Kitkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material zu behandeln.
- Die Kitkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen Natriumazid oder Thimerosal. Natriumazid bzw. Thimerosal sind giftig. Auch Substrate für enzymatische Farbreaktionen sind als giftig und karzinogen beschrieben. Jeder Kontakt mit Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.
- Die Stopplösung besteht aus verdünnter Schwefelsäure (H_2SO_4). H_2SO_4 ist eine starke Säure und muss auch in verdünnter Form mit Vorsicht verwendet werden. H_2SO_4 verursacht bei Kontakt mit der Haut Verätzungen. Es sollte daher mit Schutzhandschuhen, Schutzkleidung und Schutzbrille gearbeitet werden. Bei Kontakt mit der Schwefelsäure muss die verätzte Stelle sofort mit viel Wasser gespült werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.

8. PROBENVORBEREITUNG

Serum

Serumproben werden **unverdünnt** eingesetzt. Das Probenmaterial bis zur Verwendung bei –20 °C lagern.

Thymusextrakte

Thymusextrakte sind in der Zusammensetzung unterschiedlich. Bei Verwendung von Thymusextraktmaterial, bitten wir mit dem Hersteller in Kontakt zu treten.

9. TESTDURCHFÜHRUNG

Hinweise

- Reagenzien der Kitpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Substratlösung muss vor Gebrauch farblos sein.
- Mikrotiterstreifen während den Inkubationen mit Folie abdeckten.
- Schaumbildung beim Mischen der Reagenzien vermeiden.
- Die Bestimmung ist immer nach der im Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchzuführen.

Vorinkubation

1. **200 µl AB (**1. Antikörper) zu **400 µl STD** (Standard) bzw. **Proben-material** in einem Eppendorfprobengefäß pipetieren
2. **18 Stunden bei 2-8°C** unter Schütteln inkubieren

Die angegebenen Volumina sind für Bestimmungen von Doppelwerten.

Pippettierschema

Die vorbeschichtete Mikrotiterplatte vor Gebrauch **5x mit je 250 µl** Waschpuffer waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen.

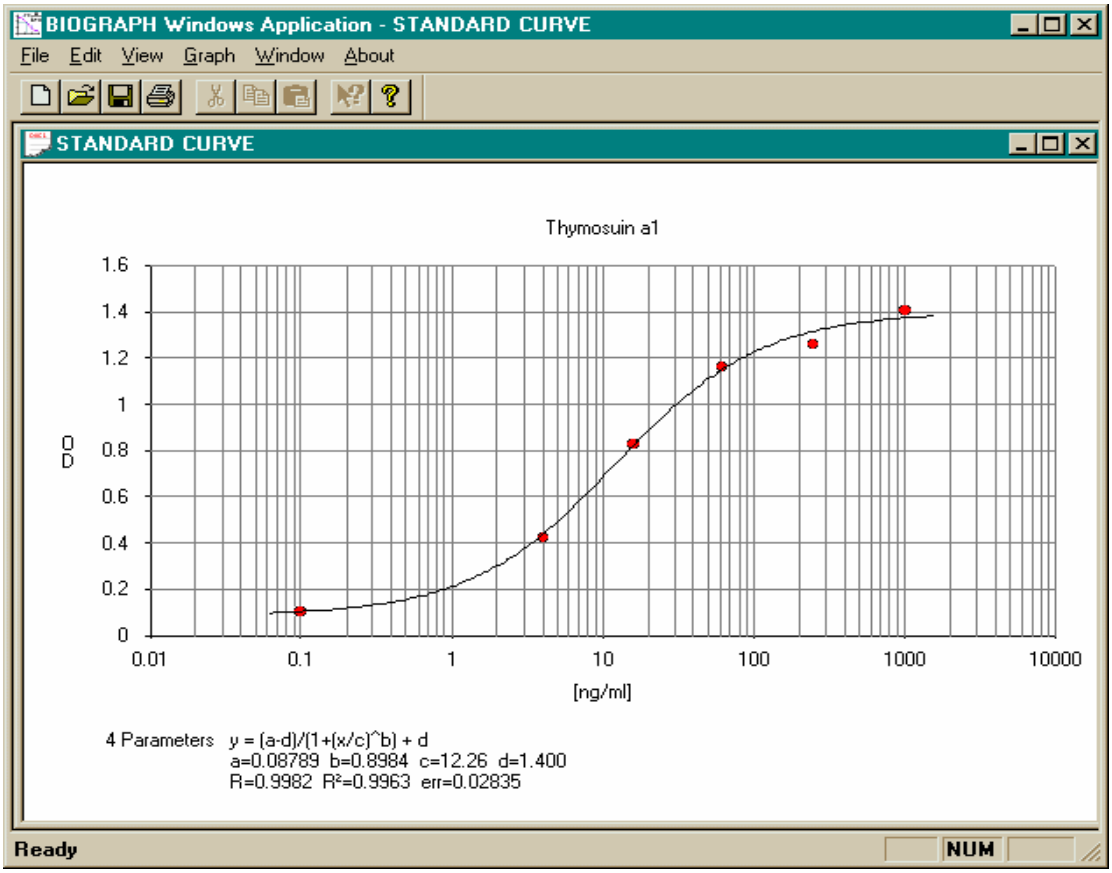
Die Bestimmungen sind in der Mikrotiterplatte in Doppelwerten durchzuführen.

1. **200 µl** des Vorinkubationsansatzes in die Vertiefungen pipettieren
2. **90 min.** bei 2-8°C im Dunkeln unter Schütteln inkubieren
3. Inhalt der Platte verwerfen und **5 x mit je 250 µl** Waschpuffer waschen Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen
4. **200 µl CONJ** (Konjugat, POD-Antikörper) pro Vertiefung pipettieren
5. **1 Stunde** bei Raumtemperatur unter Schütteln inkubieren
6. Inhalt der Platte verwerfen und **5 x mit je 250 µl** Waschpuffer waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen
7. **200 µl SUB** (Substrat) pro Vertiefung pipettieren
8. **20-30 Minuten** (entsprechend der Farbdifferenzierung) bei Raumtemperatur inkubieren
9. **50 µl STOP** (Stopplösung) pro Vertiefung zusetzen und kurz mischen
10. Extinktion **sofort** im Mikrotiterplattenphotometer bei **450 nm** gegen die Referenzwellenlänge 620 nm (oder 690 nm) messen

10. ERGEBNISSE

Zur Auswertung des Testes empfehlen wir die 4-Parameter-Funktion. Alternativ kann auch eine Punkt-zu-Punkt-Auswertung oder eine gewichtete Spline-Funktion gewählt werden. Vor jeder automatischen Auswertung sollte stets eine Kontrolle der Doppelwerte auf Plausibilität („Ausreißerkontrolle“) durchgeführt werden; falls dies nicht durch das verwendete Programm erfolgt, sollte diese der Operator durchführen.

Mustereichkurve



Konzentration [ng/ml]	1000	250	62	16	4	0
OD Mittelwert	0.283	0.422	0.692	0.845	1.054	1.117

Diese Daten sind als Beispiel für eine Standardkurve aufgeführt und dürfen nicht zur Auswertung von Kundenergebnissen verwendet werden.

Thymusextrakt

Die ermittelte Konzentration wird mit dem gewählten Verdünnungsfaktor multipliziert um die tatsächliche Konzentration zu ermitteln.

11. EINSCHRÄNKUNGEN

Proben mit hohen Thymosin α_1 Konzentrationen, die außerhalb der Standardkurve liegen, werden mit Standardverdünnungspuffer verdünnt und nochmals bestimmt.

12. QUALITÄTSKONTROLLE

Immundiagnostik AG empfiehlt den Einsatz von kommerziell erhältlichen Kontrollen (wenn vorhanden) für die interne Qualitätskontrolle.

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

Erwartete Ergebnisse

Normbereich

Die Normwerte bei gesunden Menschen sind stark altersabhängig, die höchsten Werte zeigen sich bei Neugeborenen; ab dem 20. Lebensjahr sinken die Serumwerte ab. Wir empfehlen jedem Labor eigenen Normwertbereich für verschiedene Altersgruppen zu etablieren.

13. REFERENZEN

1. Melatonin is responsible for the nocturnal increase observed in serum and thymus of thymosin alpha1 and thymulin concentrations: observation in rats and humans.
   Molinero P et al. (2000) *J Neuroimmunol* 103:180-188
2. Effect of Thymosin α1 on Hypothalamic Hormone Release.
   Milenkovic et al. (1992): *Neuroendocrinol* 56: 674-679
3. Anti-Tumor Effect of Combined Treatment with Thymosin alpha 1 and Interleukin-2 after 5-Fluorouracil in Liver Metastases from Colorectal Cancer in Rats.
   Rasi et al. (1994) *Int J Cancer* 57:701-705
4. Antitumor Effect of Thymosin α1/Interleukin-2 or Thymosin α1/Interferon α, ß Following Cyclophosphamide in Mice Injected with Highly Metastatic Friend Erythroleukemia Cells.
   Garaci et al. (1993) *J Immunotherapy* 13:7-17
5. Determination of Thymosin α1 with enzyme-immunoassay in colorectal cancer patients.
   Jevromovic et al. (1997) *Archive of Oncology* 5:193
6. A randomized trial to evaluate the immunorestorative propertise of synthetic Thymosin α1 in patients with lung cancer.
   Schulof et al. (1985) *J Biol resp Med* 4:147-158

14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in vitro* Diagnostik verwendet werden.
- Für die Qualitätskontrolle sind die für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.
- Die charakteristischen Testdaten wie Inkubationszeiten, Inkubations-temperaturen und Pipettiervolumina der verschiedenen Komponenten wurden firmenintern festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik AG übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller - der Immundiagnostik AG zurück zu senden.

Verwendete Symbole:

	Temperaturbegrenzung	REF	Bestellnummer
IVD	In-Vitro-Diagnostikum		Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen
	Hersteller		Verwendbar bis
LOT	Chargenbezeichnung		

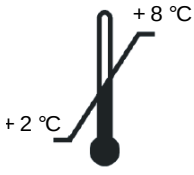
Arbeitsanleitung/Manual

Thymosin α_1 ELISA Kit

For the in vitro determination of Thymosin α_1 in serum and thymus extract

For research use only

Gültig ab / Valid from 18.12.2007



1.AB

K 9510

1. INTENDED USE

Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA) Kit is intended for the quantitative determination of of **Thymosin α_1** in serum and thymus extract. For research use only.

2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Thymosin α_1 was the first single peptide isolated from thymus fraction 5. It acts on T-helper and NK-cells. Thymosin α_1 has been reported for exert effects on hormon regulating the hypothalamus (1). Thymosin α_1 has been demonstrated to have beneficial effects in animal models of liver and colon carcinoma (2) or leukaemia (3). Its use as a prognostic factor in human studies, e.g. colon carcinoma (4) has been discussed. Thymosin α_1 has been successfully used as component combined chemotherapy in bronchial carcinoma (5).

Indications

- Disorder of immune system
- Control of immune status in association with a chemotherapy
- Disorder of endocrinium
- Quality control of thymus extracts

3. PRINCIPLE OF THE TEST

In this enzyme immunoassay (EIA) for the determination of Thymosin α_1 (**Tα_1**) polyclonal rabbit antibodies directed against synthetic **Tα_1** are used. The test principle is based on a competition between antigen in the sample or standards and the antigen coated on the wells of microplate. A peroxidase-conjugated antibody is used for detection and quantification, and tetramethylbenzidine (TMB) as a peroxidase substrate. The enzymatic reaction is terminated by an acidic stop solution. A dose response curve of absorbance unit (optical density, OD at 450 nm) vs. concentration is generated using the values obtained from standard. **Tα_1** present in the patient samples is determined directly from this curve.

4. MATERIAL SUPPLIED

Cat. No	Content	Kit Components	Quantity
K 9510MTP	PLATE	One holder with precoated strips	12 x 8 wells
K 9510WP	WASHBUF	ELISA wash buffer concentrate 10x	100 ml
K 9510A	AB	Antibody (rabbit anti Thymosin α1), ready-to-use	3 x 3.5 ml
K 9510K	CONJ	Conjugate (goat anti rabbit, Peroxidase-labled), ready-to-use	22 ml
K 9510SV	STDBUF	Standard dilution buffer, ready-to-use	50 ml
K 9510ST	STD	Calibrator concentrate, lyophilized	3 x 1 vial
K 9510TMB	SUB	TMB substrate (Tetramethylbenzidine), ready-to-use	2 x 15 ml
K 9510AC	STOP	ELISA stop solution, ready-to-use	15 ml

5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Bidistilled water (aqua bidest.)
- Precision pipettors calibrated and tips to deliver 5-1000 µl
- Foil to cover the microtiter plate
- Horizontal microtiter plate shaker
- A multi-channel dispenser or repeating dispenser
- Centrifuge capable of 3000 x g
- Vortex-Mixer
- Standard laboratory glass or plastic vials, cups, etc.
- Microtiter plate reader at 450 or 405 nm
  (reference wave length 620 or 690 nm)

6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS

- To run assay more than once, ensure that reagents are stored at conditions stated on the label. **Prepare only the appropriate amount necessary for each assay**. The kit can be used up to 4 times within the expiry date stated on the label.

- Reagents with a volume less than **100 µl** should be centrifuged before use to avoid loss of volume.

- The **WASHBUF** (ELISA wash buffer concentrate) should be diluted with aqua bidest. **1:10** before use (100 ml concentrate + 900 ml aqua bidest.), mix well. Crystals could occur due to high salt concentration in the stock solutions. The crystals must be redissolved at 37°C before dilution of the buffer solutions. The **WASHBUF** is stable at **2-8°C** until the expiry date stated on the label. Diluted **buffer solution** can be stored in a closed flask at **2-8°C for one month**.

- The **AB** (antibody) is ready to use. It can be stored at 2-8°C up to 4 weeks. Long time storage until the expiry date given on the label has to be at -20°C.

- All other test reagents are ready to use. Test reagents are stable until the expiry date (see label of test package) when stored at **2-8°C**.

- The **STD** (standard) is delivered as 1000 ng/ml concentrate, must be reconstituted with 1 ml STDBUF (standard dilution buffer) and diluted in 1:4 steps according to the following scheme:

			S1	**(1000 ng/ml)**
200 µl S1	+	**600 µl** buffer	= **S2**	**(250 ng/ml)**
200 µl S2	+	**600 µl** buffer	= **S3**	**(62 ng/ml)**
200 µl S3	+	**600 µl** buffer	= **S4**	**(16 ng/ml)**
200 µl S4	+	**600 µl** buffer	**= S5**	**(4 ng/ml)**

Dilution buffer is used as Zero calibrator

7. PRECAUTIONS

- Human materials used in kit components were tested and found to be negative for HIV, Hepatitis B and Hepatitis C. However, for safety reasons, all kit components should be treated as potentially infectious.
- Kit reagents contain sodium azide or thimerosal as bactericides. Sodium azide and thimerosal are toxic. Substrates for the enzymatic color reactions are toxic and carcinogenic. Avoid contact with skin or mucous membranes.
- Stop solution is composed of sulfuric acid, which is a strong acid. Even diluted, it still must be handled with care. It can cause acid burns and should be handled with gloves, eye protection, and appropriate protective clothing. Any spills should be wiped out immediately with copious quantities of water.
- Reagents should not be used beyond the expiration date shown on the kit label.

8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum

Serum can be used without dilution. Store samples at -20 °C.

Thymusextract

Thymus extracts have varying compositions. Please contact the supplier when using thymus extracts.

9. ASSAY PROCEDURE

Procedural notes

- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay.
- Substrate solution should remain colourless until use.
- To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary.
- Avoid foaming when mixing reagents.
- The assay should always be performed according the enclosed manual.

Preincubation

1. Add **200 µl** of the **AB** (1st antibody) to **400 µl** of **STD** (calibrator) or **sample** solutions into one way test tubes.
2. Incubate for **18 hours at 2-8°C** on a shaker.

The volume is sufficient to aasay the sample in duplicate.

Test procedure

Wash the precoated microtiter plate **5 x with 250 µl** ELISA wash buffer.

Carry out the tests in duplicate.

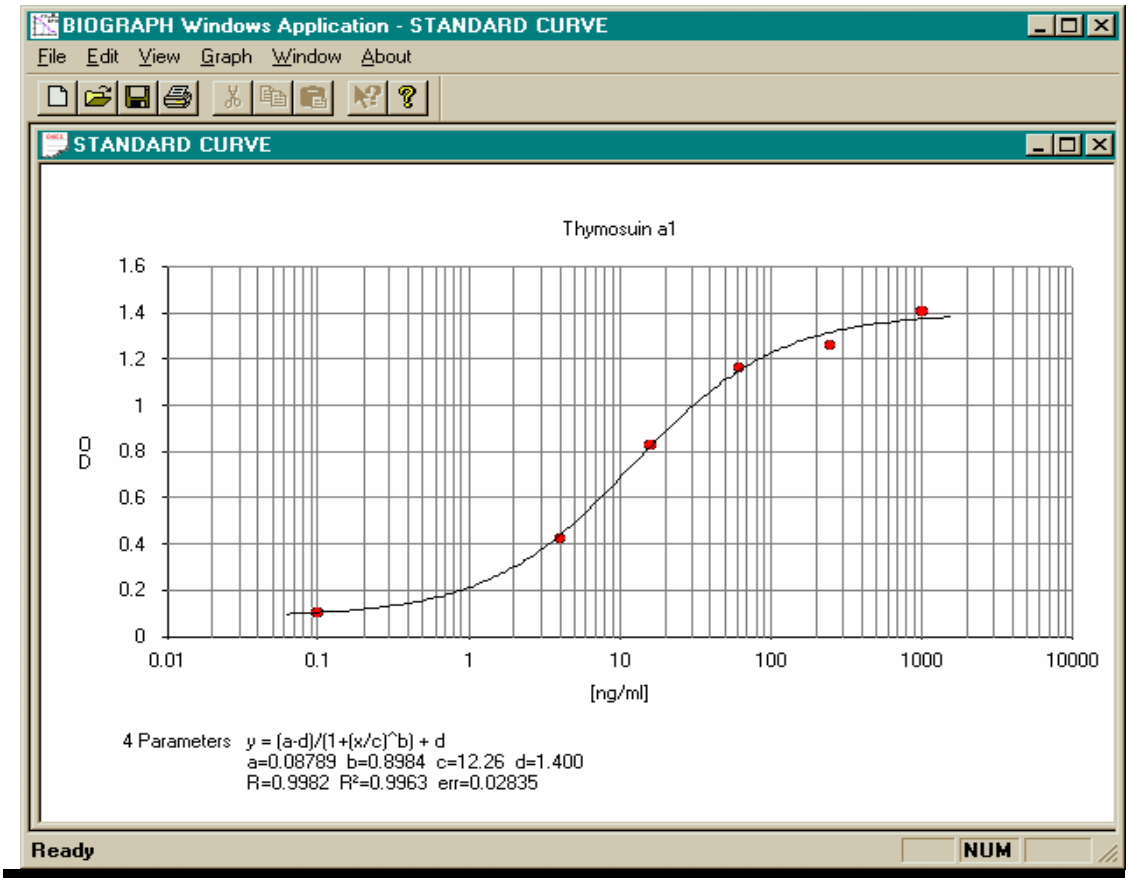
1. Add **200 µl** of the preincubated mixture to each well
2. Incubate for **90 min at 2-8°C** on a shaker in the dark
3. Aspirate and wash the wells **5 x with 250 µl** ELISA wash buffer
4. Add **200 µl** of **CONJ** (anti-rabbit-POD-conjugate)
5. Incubate for **1 hour** at room temperature
6. Aspirate and wash the wells **5 x with 250 µl** ELISA wash buffer
7. Add **200 µl** of **SUB** (TMB substrate)
8. Incubate for **20-30 minutes** at room temperature
9. Add **50 µl** of **STOP** (stop solution) and mix briefly
10. Immediately determine absorption with an ELISA reader at **450 nm** against 620 nm (or 690 nm) as reference

10. RESULTS

A calibration curve is constructed from the calibrators. Commercially available software can be used as well as graph paper. Results of the samples are read from this calibration curve.

THE CALIBRATION CURVE IS NOT LINEAR, therefore a spline- or 4PL-algorithm is recommended.

Typical calibration curve



Concentration [ng/ml]	1000	250	62	16	4	0
OD mean value	0.283	0.422	0.692	0.845	1.054	1.117

The data is for demonstration only and cannot be used for the evaluation of test results.

Thymus extract

For the calculation of the sample values the results from the microplate reader has to be multiplied with the selected **dilution factor**.

11. LIMITATIONS

Samples with levels greater than the highest standard value, should be diluted and re-assayed.

12. QUALITY CONTROL

Immundiagnostik recommends commercially control samples as internal quality control.

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

Expected values

We recommend each laboratory to establish its own baseline values.

Baseline values depend on the patient's age and vary between different individuals.

13. REFERENCES

1. Melatonin is responsible for the nocturnal increase observed in serum and thymus of thymosin alpha1 and thymulin concentrations: observation in rats and humans. **Molinero P et al.** (2000) *J Neuroimmunol* 103:180-188
2. Effect of Thymosin α1 on Hypothalamic Hormone Release. **Milenkovic et al.** (1992): *Neuroendocrinol* 56: 674-679
3. Anti-Tumor Effect of Combined Treatment with Thymosin alpha 1 and Interleukin-2 after 5-Fluorouracil in Liver Metastases from Colorectal Cancer in Rats. **Rasi et al.** (1994) *Int J Cancer* 57:701-705
4. Antitumor Effect of Thymosin α1/Interleukin-2 or Thymosin α1/Interferon α, ß Following Cyclophosphamide in Mice Injected with Highly Metastatic Friend Erythroleukemia Cells. **Garaci et al**. (1993) *J Immunotherapy* 13:7-17
5. Determination of Thymosin α1 with enzyme-immunoassay in colorectal cancer patients. **Jevromovic et al**. (1997) *Archive of Oncology* 5:193
6. A randomized trial to evaluate the immunorestorative propertise of synthetic Thymosin α1 in patients with lung cancer. **Schulof et al.** (1985) *J Biol resp Med* 4:147-158

14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- This assay was produced and put on the market according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- Guidelines for medical laboratories should be observed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the components are defined by the producer. Any variation of the test procedure, which is not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage resulting from wrong use.
- Warranty claims and complaints in respect of deficiencies must be logged within 14 days after receipt of the product. The product shall be send to Immundiagnostik AG along with a written complaint.

Used symbols:

Temperature limitation

Catalogue Number

In Vitro Diagnostic Medical Device

Contains sufficient for <n> tests

Manufacturer

Use by

Lot number