

Product information

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



Estradiol sensitive ELISA

RUO

REF DE4399

Σ 96

For Research Use Only – Not for Use in Diagnostic Procedures



Demeditec Diagnostics GmbH
Lise-Meitner-Strasse 2
24145 Kiel – Germany
www.demeditec.com

**Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit.
Verwenden Sie nur die jeweils gültige, im Testkit enthaltene, Gebrauchsanweisung.
Por favor, se usa solo la version valida de la metodico técnico incluido aqui en el kit.
Utilisez seulement la version valide des Instructions d'utilisation fournies avec le kit.**

Introduced modifications / Durchgeführte Änderungen / Modificaciones introducidas / Modifications apportées	
The following changes have been made in comparison to the previous version: Im Vergleich zur Vorgängerversion wurden folgende Änderungen vorgenommen: Se han introducido los siguientes cambios en comparación con la versión anterior: Les modifications suivantes ont été apportées par rapport à la version précédente :	
Detailed editorial revision. Changed wording in several chapters. Ausführliche redaktionelle Überarbeitung. Geänderter Wortlaut in mehreren Kapiteln. Revisión editorial detallada. Se ha cambiado la redacción de algunos capítulos. Révision éditoriale détaillée. Modification de la formulation dans plusieurs chapitres.	
1 INTENDED USE:	updated
2 PRINCIPLE OF THE TEST:	updated
4.1 Materials provided with the kit:	<ul style="list-style-type: none"> – Instead of Sample Diluent now Zero Standard with 3 mL is included. – Two more standard are included now, S1 - S6 with expanded standard range: 10 – 25 – 50 – 100 – 200 – 400 pg/mL, (old: S0 - S4, with concentrations 0; 3; 10; 50; 200 pg/mL). – Standards are now calibrated against the following reference material: 17β Estradiol (E-060-1ML, Cerilliant); – Control Low & High are now included (old: without controls). – Assay Buffer is included now. – Volume for Enzyme Conjugate and Substrate Solution are decreased to 14 mL (old: 25 mL)
4.4 Reagent Preparation:	Stability of wash solution changed to 1 week at 20 °C to 26 °C (old: 2 weeks at 20 °C to 26 °C)
5.2 Samples Storage:	Storage at 2 °C to 8 °C increased to 7 days (old: 5 days)
5.3 Sample Preparation:	Addition of information for dilution of samples.
6.2 Test Procedure:	Completely changed with additional pipetting steps, changed pipetting volumes and incubation times; Total incubation time decreased to 2.5 hours (old: 4.5 hours);
8 PERFORMANCE CHARACTERISTICS:	Complete new data.
11 LITERATURE:	updated

Table of Contents / Inhaltsverzeichnis / Tabla de Contenidos / Sommaire

1	INTENDED USE	4
2	PRINCIPLE OF THE TEST	4
3	WARNINGS AND PRECAUTIONS	4
4	MATERIALS.....	5
5	SAMPLE COLLECTION, STORAGE AND PREPARATION.....	6
6	ASSAY PROCEDURE.....	7
7	QUALITY CONTROL.....	9
8	PERFORMANCE CHARACTERISTICS.....	9
9	LIMITATIONS OF THE PROCEDURE.....	11
10	LEGAL ASPECTS.....	11
1	ZWECKBESTIMMUNG	12
2	TESTPRINZIP.....	12
3	WARNUNGEN UND VORSICHTSMAßNAHMEN.....	12
4	MATERIALIEN	14
5	ENTNAHME, LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER PROBEN.....	15
6	TESTDURCHFÜHRUNG.....	16
7	QUALITÄTSKONTROLLE	18
8	LEISTUNGSMERKMALE	18
9	GRENZEN DES VERFAHRENS	19
10	RECHTLICHE GRUNDLAGEN	19
1	FINALIDAD PREVISTA	20
2	PRINCIPIO DEL TEST	20
3	ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.....	20
4	MATERIAL	21
5	TOMA DE LA MUESTRA, ALMACENAMIENTO Y PREPARACIÓN.....	22
6	PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO	24
7	CONTROL DE CALIDAD.....	26
8	CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO	26
9	LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	26
10	CUESTIONES LEGALES	27
1	DESTINATION DU DISPOSITIF	28
2	PRINCIPE DU TEST.....	28
3	AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS	28
4	MATÉRIAUX.....	30
5	PRÉLÈVEMENT, STOCKAGE ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS	31
6	PROCÉDURE DE DOSAGE	32
7	CONTRÔLE DE QUALITÉ	34
8	CARACTERISTIQUES EN MATIERE DE PERFORMANCES	34
9	LIMITES DE LA PROCÉDURE	34
10	ASPECTS JURIDIQUES	35
11	LITERATURE.....	35
	SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS	36

1 INTENDED USE

The **DEMEDITEC Estradiol sensitive ELISA** is a manual enzyme immunoassay for the **measurement** of estradiol in human serum or plasma (EDTA, Li-heparin or citrate plasma).

For Research Use Only – Not for Use in Diagnostic Procedures. For laboratory professional use.

2 PRINCIPLE OF THE TEST

The DEMEDITEC Estradiol Sensitive ELISA is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) based on the **principle of competitive binding**. The microtiter wells are coated with a polyclonal antibody (rabbit) directed towards antigenic sites of the estradiol molecule. During the first incubation, the sample is incubated together with Assay Buffer in the coated well. Thereafter, enzyme conjugate, (estradiol conjugated to horseradish peroxidase) is added. Estradiol in the sample competes with the added enzyme conjugate, for binding to the coated antibody. After a washing step to remove all unbound substances, the solid phase is incubated with the substrate solution. The colorimetric reaction is stopped by addition of stop solution, and optical density (OD) of the resulting yellow product is measured. The intensity of color is inversely proportional to the concentration of the analyte in the sample. A standard curve is constructed by plotting OD values against concentrations of standards, and concentrations of unknown samples are determined using this standard curve.

3 WARNINGS AND PRECAUTIONS

- This kit is for Research Use Only – Not for Use in Diagnostic Procedures. For laboratory professional use only.
- Before starting the assay, read the instructions for use completely and carefully. Use the valid version of instructions for use provided with the kit. Be sure that everything is understood.
- Do not mix or use components from kits with different lot numbers. It is advised not to interchange wells of different plates even of the same lot. The kits may have been shipped or stored under different conditions and the binding characteristics of the plates may result slightly different.
- Do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
- Do not reuse microtiter wells.
- Reagents of other manufacturers must not be used together with the reagents of this test kit.
- All reagents in this kit are clear liquids, substrate solution is clear and colorless. Changes in its appearance may affect the performance of the test. In that case, contact DEMEDITEC.
- Microbial contamination of reagents or samples may give false results.
- Allow the reagents to reach room temperature (20 °C to 26 °C) before starting the test. Temperature will affect the optical density readings of the assay.
- All indicated volumes must be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microtiter plate readers.
- Use reservoirs only for single reagents. This especially applies to the substrate reservoirs. Using a reservoir for dispensing a substrate solution that had previously been used for the conjugate solution may turn solution coloured. Do not pour reagents back into original vials as reagent contamination may occur.

General precautions

- Follow laboratory quality assurance and laboratory safety guidelines.
- Never pipet by mouth and avoid contact of reagents and samples with skin and mucous membranes.
- Do not smoke, eat, drink, or apply cosmetics in areas where samples or kit reagents are handled.
- Wear lab coats and disposable latex gloves when handling samples and reagents and where necessary safety glasses.

Biohazard information

- All reagents of this test kit which contain human serum or plasma have been tested and confirmed negative for HIV I/II, HBsAg and HCV by FDA approved procedures. However, no known test method can offer total assurance that no infectious agent is present.

- The device contains material of animal origin, which is certified apparently free of infectious or contagious diseases and injurious parasites.
- Bovine components originate from countries where BSE (Bovine spongiform encephalopathy) has not been reported.
- All materials and samples of human or animal origin must be handled as if capable of transmitting infectious diseases.
- Handling must be done in accordance with the procedures defined by appropriate national biohazard and safety guideline or regulation. Waste must be discarded according to local rules and regulations.

Information to chemical hazards and hazard classification

- Some reagents contain preservatives in non-declarable concentrations. Nevertheless, in case of contact with eyes or skin, flush immediately with water.
- Substrate Solution contains an ingredient in non-declarable concentrations which causes serious eye irritation. In case of possible contact with eyes, rinse immediately carefully and thoroughly with eye wash or water. After contact with skin, wash with plenty of water. Take-off contaminated clothing and wash it before reuse.
- Avoid contact with Stop Solution containing < 5 % H₂SO₄. It may cause skin irritation and burns.
- Chemicals and prepared or used reagents must be treated as hazardous waste according to the national safety guideline or regulation.
- This product does not contain substances which have carcinogenic, mutagenic or toxic for reproduction (CMR) properties.

All reagents of this test kit do NOT contain hazardous substances in concentrations to be declared, a classification and labelling is not required.

4 MATERIALS

4.1 Materials provided with the kit

1. **SORB** **MT** **Microtiterwells**, 12 x 8 wells (break apart), ready to use; Microtiter plate, Coated with anti-estradiol antibody (polyclonal).
2. **CAL** **0** **Zero Standard** *, 1 x 3 mL, ready to use; Zero Standard, Concentration: 0 pg/mL.
3. **CAL** **1** – **6** **Standard** * (**Standard 1 – 6**), 6 x 1 mL, ready to use; Standards, concentrations: 10 – 25 – 50 – 100 – 200 – 400 pg/mL, conversion: 1 pg/mL = 3.671 pmol/L, *calibrated against the following reference material: 17β Estradiol (E-060-1ML, Cerilliant).*
4. **CONTROL** **low** & **high** **Control Low & High** *, 2 x 1 mL, ready to use; Controls, *for control values and ranges please refer to vial label or Certificate of Analysis.*
5. **BUF** **Assay Buffer** *, 1 x 7 mL, ready to use; Assay Buffer.
6. **ENZ** **CONJ** **Enzyme Conjugate** *, 1 x 14 mL, ready to use; Enzyme Conjugate, estradiol conjugated to horseradish peroxidase.
7. **SUB** **TMB** **Substrate Solution**, 1 x 14 mL, ready to use; Substrate Solution, contains 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB), *keep away from direct sun light.*
8. **STOP** **SOLN** **Stop Solution**, 1 x 14 mL, ready to use; Stop Solution, contains < 5 % H₂SO₄; *Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.*
9. **WASH** **SOLN** **40x** **Wash Solution** *, 1 x 30 mL, *see „Reagent Preparation“*; Wash Solution, 40X concentrate.
10. 1x **Instructions for Use**; 1x **Certificate of Analysis (CoA)**

* Contains non-mercury preservative.

4.2 Materials required but not provided

- A calibrated microtiter plate reader (450 nm, with reference wavelength at 620 nm to 630 nm)
- Calibrated variable precision micropipettes
- Manual or automatic equipment for rinsing microtiter plate wells
- Absorbent paper
- Distilled water
- Timer
- Graph paper or software for data reduction

4.3 Storage and Stability of the Kit

Unopened kits and reagents as well as **opened reagents** must be stored at 2 °C to 8 °C.

The microplate must always be stored in the resealable aluminum pouch containing a desiccant. Do not open the pouch until it has reached room temperature. The microtiter plate consists of 12 individual strips. Each strip can be divided into 8 individual wells. Unused wells must be immediately returned to the aluminum pouch with the desiccant and stored again tightly resealed at 2 °C to 8 °C. Once opened, reagent vials must be closed tightly again.

	Storage Temperature	Stability
Unopened kits and unopened reagents	2 °C to 8 °C	Until the expiration date printed on the label. Do not use reagents beyond this date!
Opened kit	2 °C to 8 °C	8 weeks

4.4 Reagent Preparation

Bring all reagents and required number of strips to room temperature (20 °C to 26 °C) prior to use.

Wash Solution

Add distilled water to the 40X concentrated Wash Solution.

Dilute 30 mL of concentrated *Wash Solution* with 1170 mL distilled water to a final volume of 1200 mL.

Stability after dilution:	at 20 °C to 26 °C	1 week
---------------------------	-------------------	--------

4.5 Disposal of the Kit

The disposal of the kit and all used materials/reagents must be performed according to the national regulations. Special information for this product is given in the Safety Data Sheet, section 13.

4.6 Damaged Test Kits

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

5 SAMPLE COLLECTION, STORAGE AND PREPARATION

The following sample material can be used in this test:

Human serum or plasma (EDTA plasma, lithium heparin plasma or citrate plasma)

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

In general, it should be avoided to use hemolytic, icteric, or lipemic samples. For further information refer to chapter "*Interfering Substances*".

5.1 Sample Collection

Serum: Collect blood by venipuncture (e.g. Sarstedt Monovette for serum), allow to clot, and separate serum by centrifugation at room temperature. Do not centrifuge before complete clotting has occurred. Individuals receiving anticoagulants may require increased clotting time.

Plasma: Whole blood should be collected into centrifuge tubes containing anticoagulant (e.g. Sarstedt Monovette with the appropriate plasma preparation) and centrifuged immediately after collection.

Whole blood should not be frozen before centrifugation.

5.2 Samples Storage

Samples must be stored tightly capped prior to performing the assay. If stored frozen, freeze only once. Thawed samples must be inverted several times prior to testing.

Stability	at 2 °C to 8 °C	7 days
	at -20 °C (in aliquots)	up to 12 months

5.3 Sample Preparation

Samples can be assayed without additional preparation.

Very high estradiol concentrations are expected during pregnancy. Therefore, dilution of samples from such subjects will be required.

Example:

Dilution 1:100: 10 μ L sample + 990 μ L *Zero Standard*; Mix thoroughly.

6 ASSAY PROCEDURE

6.1 Procedural Notes

- All reagents and samples must be allowed to come to room temperature (20 °C to 26 °C) before use.
- All reagents must be mixed without foaming.
- Do not interchange caps of reagent vials to avoid cross-contamination.
- Use new disposal plastic pipette tips for each standard, control, or sample in order to avoid carry-over.
- To avoid cross-contamination and falsely elevated results pipette samples and dispense conjugate without splashing accurately to the bottom of wells.
- Mix the contents of the microtiter plate wells thoroughly to ensure good test results.
- Do not let wells dry during assay; add reagents immediately after completing the rinsing steps.
- Once the test has been started, all steps must be completed without interruption and in the same sequence for each step.
- The enzymatic reaction is linearly proportional to time and temperature.
- Optical density is a function of the incubation time and temperature. Respect the incubations times and temperatures as given in chapter "Test Procedure".
- Before starting the assay, it is recommended that all reagents are ready, caps removed, all needed wells secured in holder, etc. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step without interruption.
- **Important note to wash procedure:**
Washing is critical. Improperly washed wells will give erroneous results. The sensitivity and precision of this assay is markedly influenced by the correct performance of the washing procedure!
- **Test performance using fully automated analysis devices:**
Automated test performance using fully automated, open-system analysis devices is possible. However, the combination must be validated by the user.

6.2 Test Procedure

Each run must include a standard curve.

The controls serve as internal controls for the reliability of the test procedure. They must be assayed with each test run.

The given test procedure describes manual processing.

Important note: The accuracy of this assay is markedly influenced by the correct incubation temperature, and correct pipetting volumes.

1. Secure the desired number of microtiter wells in the frame holder.
2. Pipette **50 µL** of each **Standard, Control,** and **sample with new disposable tips** into appropriate wells.
3. Add **50 µL Assay Buffer** into each well.
Thoroughly mix for 10 seconds. It is important to have a complete mixing in this step.
4. Incubate for **60 minutes** at room temperature.
5. Add **100 µL Enzyme Conjugate** into each well.
Thoroughly mix for 10 seconds. It is important to have a complete mixing in this step.
6. Incubate for **60 minutes** at room temperature.
7. Wash the wells as follows:
If the wash step is performed manually:
 Briskly shake out the contents of the wells.
 Rinse the wells **4 times** with **300 µL** diluted *Wash Solution* per well.

If an automated plate washer is used:
 Rinse the wells **4 times** with **400 µL** diluted *Wash Solution* per well.

At the end of the washing step, always strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets!
8. Pipette **100 µL** of **Substrate Solution** to each well.
9. Incubate for **30 minutes** at room temperature.
10. Stop the enzymatic reaction by adding **100 µL** of **Stop Solution** to each well.
11. Measure the optical density (OD) of the solution in each well at **450 nm (measurement wavelength) and at 620 nm or 630 nm (reference wavelength for recommended background subtraction)** with a microtiter plate reader.
It is recommended that the wells be read **within 10 minutes** after adding the *Stop Solution*.

6.3 Results

1. The concentration of the samples can be read directly from the standard curve.
2. For duplicate determinations, the mean of the two optical density (OD) values for each standard, control, and sample must be taken. If the two values deviate substantially from one another, DEMEDITEC recommends retesting the samples.
3. Samples with concentrations exceeding the highest standard can be further diluted with *Zero Standard* and re-assayed as described in "Test Procedure", or must be reported as > 400 pg/mL. For the calculation of the concentrations, this dilution factor must be considered.
4. Automated method:
The results in the instructions for use have been calculated automatically using a four-parameter logistic (4PL) curve fit. (4PL Rodbard or 4PL Marquardt are the preferred methods.) Other data reduction functions may give slightly different results.
5. Manual method:
Using semi-logarithmic graph paper, construct a standard curve by plotting the (mean) OD obtained from each standard against its concentration with OD value on the vertical (Y) axis and concentration on the horizontal (X) axis.
Determine the corresponding sample concentration from the standard curve by using the (mean) OD value for each sample.

7 QUALITY CONTROL

Good quality assurance in the laboratory requires that controls be run with each calibration curve. A statistically significant number of controls should be assayed to establish mean values and acceptable ranges to assure proper performance. It is recommended to use control samples. The use of control samples is advised to assure the day-to-day validity of results. The controls and the corresponding results of the Quality Control Laboratory are stated in the Certificate of Analyses (CoA) added to the kit. The values and ranges stated on the CoA always refer to the current kit lot and must be used for direct comparison of the results.

Apply appropriate statistical methods for analyzing control values and trends. If the results of the assay do not agree with the established acceptable ranges of control materials, results should be considered invalid. In this case, please check the following technical areas: Pipetting and timing devices; photometer, expiration dates of reagents, storage and incubation conditions, aspiration and washing methods. After checking the above-mentioned items without finding any error contact your distributor or DEMEDITEC directly.

8 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

8.1 Specificity of Antibodies (Cross-Reactivity)

The following substances were tested for cross-reactivity of the assay:

Substance	Concentration Range of Spiked Substance (pg/mL)	Mean Cross-Reactivity (%)	Substance	Concentration Range of Spiked Substance (pg/mL)	Mean Cross-Reactivity (%)
11-Desoxycortisol	10 – 1000	0	DHEA	0.5 – 50	0
17-OH Progesterone	1.2 – 120	0.1	DHEA-S	300 – 30000	0
21-OH Progesterone	35 – 3500	0	Estriol	1.5 – 150	0
Aldosterone	0.075 – 7.5	0	Estrone	0.03 – 0.3	2.2
Androstendione	0.22 – 22	0	Glucose	100 – 10000 µg/mL	0
Androsterone	10 – 1000	0	Prednisolone	35 – 3500	0
Corticosterone	0.5 – 50	0	Prednisone	35 – 3500	0
Cortisol	16 – 1600	0	Pregnenolone	35 – 3500	0
Cortisone	16 – 1600	0	Progesterone	42.2 – 4220	0.1
Creatinine	500 – 50000	0	Testosterone	1 – 100	0

8.2 Sensitivity

Limit of Blank (LoB)	3.146 pg/mL
Limit of Detection (LoD)	5.583 pg/mL
Limit of Quantification (LoQ)	7.445 pg/mL
Measuring range	5.583 pg/mL – 400 pg/mL
Linear range	13.00 pg/mL – 400 pg/mL

8.3 Reproducibility

8.3.1 Within-run Precision

The within-run precision was determined with 4 samples covering the complete measuring range in 5 independent runs within 5 days in 5 replicates per run. CV was calculated as mean CV of 5 runs.

Sample	n	Mean (pg/mL)	CV (%)
1	5	10.15	9.3
2	5	21.41	6.9
3	5	42.00	2.6
4	5	138.93	2.9

8.3.2 Between-run Precision

The between-run variation was determined with 4 samples. The 4 samples are measured in 5 days with 5 replicates per run. 25 data points are generated per sample (5 replicates x 5 runs = 25 data points).

Sample	n	Mean (pg/mL)	CV (%)
1	25	10.15	11.0
2	25	21.41	10.6
3	25	42.00	6.0
4	25	138.93	5.3

8.3.3 Between-lot Precision

The between-lot variation was determined by 6 measurements of different samples with 3 different kit lots.

Sample	n	Mean (pg/mL)	CV (%)
1	18	9.92	6.9
2	18	35.04	4.5
3	18	79.40	6.9
4	18	134.72	3.0

8.4 Recovery

Recovery was determined by adding increasing amounts of the analyte to different samples containing different amounts of endogenous analyte. The percentage recoveries were determined by comparing expected and measured values of the samples.

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
Concentration (pg/mL)	6.33	37.98	77.51	124.02
Average Recovery (%)	94.9	101.5	105.4	100.5
Range of Recovery (%)	from	90.3	96.8	100.8
	to	98.4	106.8	110.5

8.5 Linearity

Samples containing different amounts of analyte were serially diluted with *Zero Standard*. The percentage recovery was calculated by comparing the expected and measured values for the analyte.

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
Concentration (pg/mL)	196.88	283.46	379.00	446.00
Average Recovery (%)	96.4	96.8	91.6	95.2
Range of Recovery (%)	from	86.4	88.7	85.5
	to	105.6	103.4	95.5

9 LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Reliable and reproducible results will be obtained when the assay procedure is performed with a complete understanding of the instructions for use and in compliance with the laboratory quality assurance guidelines. Any improper handling of samples or modification of this test might influence the results.

9.1 Interfering Substances

Hemoglobin (up to 4 mg/mL), bilirubin (up to 0.063 mg/mL) and triglyceride (up to 7.5 mg/mL) have no influence on the assay results. Until today no other substances are known to us, which have an influence on the measurement of estradiol in a sample.

9.2 High-Dose Hook Effect

"High-Dose Hook Effect" is not detected up to 8000 pg/mL of estradiol.

10 LEGAL ASPECTS

10.1 Reliability of Results

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover, the user must adhere to the laboratory quality assurance guidelines. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test. The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications. If there is any doubt or concern regarding a result, please contact DEMEDITEC.

10.2 Liability

Any modification of the test kit and/or exchange or mixture of any components of different lots from one test kit to another could negatively affect the intended results and validity of the overall test. Such modification and/or exchanges invalidate any claim for replacement. Regardless, in the event of any claim, the manufacturer's liability is not to exceed the value of the test kit. Any damage caused to the test kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer.

1 ZWECKBESTIMMUNG

Der **DEMEDIATEC Estradiol Sensitive ELISA** ist ein manueller Enzymimmunoassay zur Messung von Estradiol in humanem Serum oder Plasma (EDTA-, Lithium-Heparin- oder Citratplasma).

Nur für Forschungszwecke. Für den beruflichen Gebrauch in Laboratorien.

2 TESTPRINZIP

Der DEMEDIATEC Estradiol Sensitive ELISA ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay, der auf dem **Prinzip der kompetitiven Bindung** basiert. Die Wells der Mikrotiterplatten sind mit einem polyklonalen Antikörper (Kaninchen) beschichtet, der gegen definierte Antikörper-Bindungsstellen des Estradiol-Moleküls gerichtet ist. Während der ersten Inkubation wird die Probe zusammen mit dem Assaypuffer in der beschichteten Vertiefung inkubiert. Danach wird ein Enzymkonjugat (Estradiol, konjugiert mit Meerrettichperoxidase) zugegeben. Estradiol in der Probe konkurriert mit dem zugegebenen Enzymkonjugat um die Bindung an den immobilisierten Antikörper. Nach einem Waschschrift, um alle ungebundenen Substanzen zu entfernen, wird die feste Phase mit der Substratlösung inkubiert. Die Farbreaktion wird durch die Zugabe der Stopplösung beendet und die optische Dichte (OD) des resultierenden gelben Produktes gemessen. Die Intensität der Farbe ist umgekehrt proportional zur Konzentration des Analyten in der Probe. Durch Auftragen der OD-Werte gegen die Konzentrationen der Standards wird eine Standardkurve erstellt, und die Konzentrationen der unbekanntenen Proben werden anhand dieser Standardkurve bestimmt.

3 WARNUNGEN UND VORSICHTSMAßNAHMEN

- Dieser Kit ist nur für Forschungszwecke bestimmt. Nur für den professionellen Gebrauch in Laboratorien.
- Bevor Sie mit dem Test beginnen, lesen Sie die Gebrauchsanweisung vollständig und sorgfältig durch. Verwenden Sie nur die gültige, im Testkit enthaltene, Gebrauchsanweisung. Stellen Sie sicher, dass Sie alles verstanden haben.
- Komponenten aus Kits mit unterschiedlichen Chargennummern dürfen nicht gemischt oder zusammen verwendet werden. Vertiefungen verschiedener Platten, auch aus derselben Charge, sollten nicht untereinander ausgetauscht werden. Die Kits können unter unterschiedlichen Bedingungen transportiert oder gelagert worden sein, so dass die Bindungscharakteristik der Platten leichte Unterschiede aufweisen kann.
- Reagenzien nicht über das auf den Kit-Etiketten angegebene Verfallsdatum hinaus verwenden.
- Mikrotitervertiefungen nicht wiederverwenden.
- Reagenzien anderer Hersteller dürfen nicht zusammen mit den Reagenzien dieses Testkits verwendet werden.
- Alle Reagenzien dieses Kits sind klare Lösungen, die Substratlösung ist klar und farblos. Veränderungen des Aussehens können die Durchführung des Tests beeinträchtigen. In diesem Fall wenden Sie sich bitte an DEMEDIATEC.
- Eine mikrobielle Kontamination von Reagenzien oder Proben kann zu falschen Ergebnissen führen.
- Lassen Sie die Reagenzien vor Testbeginn Raumtemperatur (20 °C bis 26 °C) erreichen. Die Temperatur wirkt sich auf die Messungen der optischen Dichte des Assays aus.
- Alle im Kit-Protokoll angegebenen Volumina müssen genau eingehalten werden. Optimale Ergebnisse können nur durch Verwendung kalibrierter Pipetten und Mikrotiterplatten-Lesegeräte erreicht werden.
- Behältnisse jeweils nur für ein einziges Reagenz verwenden. Dies gilt insbesondere für die Substrat-Behälter. Die Verwendung eines Behälters zum Pipettieren der Substratlösung, der zuvor für die Konjugatlösung verwendet wurde, kann zu einer Verfärbung der Lösung führen. Geben Sie keine Reagenzien zurück in die Originalfläschchen, da es zu einer Kontamination der Reagenzien kommen kann.

Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

- Befolgen Sie die Richtlinien zur Qualitätssicherung und zur Sicherheit im Labor.
- Niemals mit dem Mund pipettieren und den Kontakt von Reagenzien und Proben mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
- In Bereichen, in denen mit Kitbestandteilen oder Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen, trinken oder Kosmetika verwenden.
- Beim Umgang mit Proben und Reagenzien sind Laborkittel und Einweg-Latexhandschuhe sowie, falls erforderlich, eine Schutzbrille zu tragen.

Informationen zur biologischen Gefährdung

- Alle Bestandteile dieses Testkits, die humanes Serum oder Plasma enthalten, wurden mit FDA-geprüften Methoden auf HIV I/II, HbsAg und HCV getestet und als negativ bestätigt. Kein bekanntes Testverfahren kann jedoch mit absoluter Sicherheit ausschließen, dass kein Infektionserreger vorhanden ist.
- Das Produkt enthält Material tierischen Ursprungs, das nachweislich frei von infektiösen oder ansteckenden Krankheiten und schädigenden Parasiten ist.
- Komponenten von Rindern stammen aus Ländern, in denen keine BSE (Bovine Spongiforme Enzephalopathie) gemeldet wurde.
- Alle Materialien und Proben menschlichen oder tierischen Ursprungs müssen so behandelt werden, als ob sie ansteckende Krankheiten übertragen könnten.
- Die Handhabung muss in Übereinstimmung mit den Verfahren erfolgen, die in den entsprechenden nationalen Richtlinien oder Vorschriften für Biogefährdung und Sicherheit festgelegt sind. Abfälle müssen gemäß den lokalen Regeln und Vorschriften entsorgt werden.

Informationen zu chemischen Gefahren und zur Gefahreinstufung

- Einige Reagenzien enthalten Konservierungsmittel in nicht kennzeichnungspflichtiger Konzentrationen. Bei Kontakt der Reagenzien mit den Augen oder der Haut dennoch sofort mit ausreichend Wasser spülen.
- Die Substratlösung enthält einen Inhaltsstoff in nicht kennzeichnungspflichtiger Konzentration, der schwere Augenreizungen verursacht. Bei möglichem Kontakt mit den Augen sofort sorgfältig und gründlich mit Augenspülung oder Wasser spülen. Bei Berührung mit der Haut mit reichlich Wasser abwaschen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor Wiederverwendung waschen.
- Kontakt mit der Stopplösung (*Stop Solution*) vermeiden, da sie < 5% H₂SO₄ enthält. Schwefelsäure kann Hautreizungen und -verätzungen verursachen.
- Chemikalien und zubereitete oder gebrauchte Reagenzien müssen als gefährlicher Abfall gemäß den nationalen Sicherheitsrichtlinien oder -vorschriften behandelt werden.
- Dieses Produkt enthält keine Stoffe, die krebserregende, erbgutverändernde oder fortpflanzungsgefährdende Eigenschaften (CMR) haben.

Alle Reagenzien dieses Testkits enthalten KEINE gefährlichen Stoffe in deklarationspflichtigen Konzentrationen, eine Einstufung und Kennzeichnung ist nicht erforderlich.

Ausführliche Informationen entnehmen Sie bitte dem Sicherheitsdatenblatt, das Sie auf Anfrage direkt bei DEMEDITEC erhalten.

4 MATERIALIEN

4.1 Im Kit mitgelieferte Materialien

1. **SORB MT** Microtiterwells, 12 x 8 Wells (einzeln brechbar), gebrauchsfertig; Mikrotiterplatte, mit anti-Estradiol-Antikörper (polyklonal) beschichtet.
2. **CAL 0** Zero Standard *, 1 x 3 mL, gebrauchsfertig; Nullstandard, Konzentration: 0 pg/mL.
3. **CAL 1 – 6** Standard * (Standard 1 – 6), 6 x 1 mL, gebrauchsfertig; Standards, Konzentrationen: 10 – 25 – 50 – 100 – 200 – 400 pg/mL, Umrechnungsfaktor: 1 pg/mL = 3,671 pmol/L, kalibriert gegen folgendes Referenzmaterial: *17 β Estradiol (E-060-1ML, Cerilliant)*.
4. **CONTROL low & high** Control Low & High *, 2 x 1 mL, gebrauchsfertig; Kontrollen, *Kontrollwerte und -bereiche entnehmen Sie bitte dem Fläschchenetikett oder dem CoA.*
5. **BUF** Assay Buffer *, 1 x 7 mL, gebrauchsfertig; Assaypuffer.
6. **ENZ CONJ** Enzyme Conjugate *, 1 x 14 mL, gebrauchsfertig; Enzymkonjugat, Estradiol mit Meerrettichperoxidase konjugiert.
7. **SUB TMB** Substrate Solution, 1 x 14 mL, gebrauchsfertig; Substratlösung, enthält 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB). *Von direktem Sonnenlicht fernhalten.*
8. **STOP SOLN** Stop Solution, 1 x 14 mL, gebrauchsfertig; Stopplösung, enthält < 5 % H₂SO₄. *Kontakt mit der Stopplösung vermeiden! Kann Hautreizungen und -verätzungen verursachen.*
9. **WASH SOLN 40x** Wash Solution *, 1 x 30 mL, siehe "Vorbereitung der Reagenzien"; Waschlösung, 40X-Konzentrat.
10. 1x **Gebrauchsanweisung (IFU)**; 1x **Analysenzertifikat (CoA)**
* Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.

4.2 Erforderliche, aber nicht enthaltene Materialien

- Kalibriertes Mikrotiterplattenlesegerät (450 nm, mit Referenzwellenlänge bei 620 nm bis 630 nm)
- Kalibrierte variable Präzisions-Mikropipetten
- Manuelle oder automatische Waschvorrichtung für Mikrotiterplatten
- Saugfähiges Papier
- Destilliertes Wasser
- Laborwecker
- Millimeterpapier oder Software zur Datenauswertung

4.3 Lagerung und Haltbarkeit des Kits

Ungeöffnete Kits und Reagenzien sowie **geöffnete Reagenzien** müssen bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.

Die Mikrotiterplatte muss immer in dem wiederverschließbaren Aluminiumbeutel, der ein Trockenmittel enthält, gelagert werden. Öffnen Sie den Beutel erst, wenn er Raumtemperatur erreicht hat. Die Mikrotiterplatte besteht aus 12 einzelnen Streifen. Jeder Streifen kann in 8 einzelne Kavitäten (Wells) unterteilt werden. Nicht benötigte Kavitäten müssen sofort in den Aluminiumbeutel mit dem Trockenmittel zurückgegeben und wieder dicht verschlossenen bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.

Einmal geöffnete Reagenzfläschchen müssen wieder fest verschlossen werden.

	Lagerungstemperatur	Stabilität
Ungeöffneter Kit und ungeöffnete Reagenzien	2 °C bis 8 °C	Bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatum. Reagenzien nach Ablauf dieses Datums nicht mehr verwenden!
Geöffneter Kit	2 °C bis 8 °C	8 Wochen

4.4 Vorbereitung der Reagenzien

Alle Reagenzien und die benötigte Anzahl der Mikrotiterstreifen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (20 °C bis 26 °C) bringen.

Wash Solution

Fügen Sie der 40-fach konzentrierten Waschlösung (*Wash Solution*) destilliertes Wasser hinzu. 30 mL der konzentrierten Waschlösung mit 1170 mL destilliertem Wasser auf ein Endvolumen von 1200 mL verdünnen.

Stabilität nach Verdünnung:	bei 20 °C bis 26 °C	1 Woche
-----------------------------	---------------------	---------

4.5 Entsorgung des Kits

Die Entsorgung des Kits und aller verwendeten Materialien / Reagenzien muss gemäß den nationalen gesetzlichen Vorschriften erfolgen. Spezielle Informationen für dieses Produkt finden Sie im Sicherheitsdatenblatt, Abschnitt 13.

4.6 Beschädigte Testkits

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

5 ENTNAHME, LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER PROBEN

Das folgende Probenmaterial kann in diesem Test eingesetzt werden:

Humanes Serum oder Plasma (EDTA-, Lithium-Heparin- oder Citratplasma)

Proben, die Natriumazid enthalten, sollten nicht verwendet werden. Generell sollte die Verwendung von hämolytischen, ikterischen oder lipämischen Proben vermieden werden. Weitere Informationen finden Sie im Kapitel „*Interferenzen*“.

5.1 Probenentnahme

Serum: Blut durch Venenpunktion entnehmen (z.B. mit Sarstedt Monovette für Serum), gerinnen lassen und das Serum durch Zentrifugation bei Raumtemperatur abtrennen. Vor der Zentrifugation muss die Gerinnung vollständig abgeschlossen sein. Bei Probanden, die Antikoagulantien erhalten, kann die Gerinnungszeit länger dauern.

Plasma: Die Blutentnahme erfolgt mit Röhrchen, die ein Antikoagulant enthalten (z.B.: Sarstedt Monovette – mit entsprechender Plasma-Präparierung). Das Plasma wird als Überstand nach einer Zentrifugation gewonnen.

Vollblut sollte vor der Zentrifugation nicht eingefroren werden.

5.2 Probenlagerung

Die Proben müssen bis zur Durchführung des Tests fest verschlossen aufbewahrt werden. Wenn sie gefroren gelagert werden, nur einmal einfrieren. Aufgetaute Proben müssen vor dem Test mehrmals geschwenkt werden.

Stabilität:	bei 2 °C bis 8 °C	7 Tage
	bei -20 °C (in Aliquoten)	bis zu 12 Monate

5.3 Probenvorbereitung

Die Proben können ohne zusätzliche Vorbereitung analysiert werden.

Während der Schwangerschaft sind sehr hohe Estradiol-Konzentrationen zu erwarten. Proben solcher Probanden müssen daher verdünnt werden.

Beispiel:

Verdünnung 1:100: 10 µL Probe + 990 µL *Zero Standard*; Sorgfältig mischen.

6 TESTDURCHFÜHRUNG

6.1 Hinweise zur Durchführung

- Alle Reagenzien und Proben müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20 °C bis 26 °C) gebracht werden.
- Alle Reagenzien müssen ohne Schaumbildung gemischt werden.
- Die Kappen der Reagenzfläschchen dürfen nicht vertauscht werden, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
- Für jeden Standard, jede Kontrolle oder Probe eine neue Einweg-Plastikspitze verwenden, um Verschleppungen zu vermeiden.
- Mischen Sie den Inhalt der Mikrotiterplatten-Vertiefungen gründlich, um gute Testergebnisse zu gewährleisten.
- Kavitäten während der Testdurchführung nicht trocknen lassen; Reagenzien unmittelbar nach Ende des Waschschriffs hinzufügen.
- Sobald der Test begonnen wurde, müssen alle Schritte ohne Unterbrechung und in der gleichen Reihenfolge für jeden Schritt abgeschlossen werden.
- Die enzymatische Reaktion ist linear proportional zu Zeit und Temperatur.
- Die optische Dichte ist eine Funktion der Inkubationszeit und -temperatur. Die in Kapitel "Testverfahren" angegebenen Inkubationszeiten und -temperaturen müssen eingehalten werden.
- Es wird empfohlen, vor Beginn der Testdurchführung alle Reagenzien in einen arbeitsbereiten Zustand zu bringen, die Deckel der Fläschchen zu öffnen, alle benötigten Wells in den Halter zu setzen, usw. Nur eine solche Vorbereitung garantiert für jeden Pipettierschritt gleiche Zeiten ohne Unterbrechung.
- **Wichtiger Hinweis zum Waschvorgang:**
Das Waschen ist entscheidend. Unsachgemäß gewaschene Kavitäten führen zu fehlerhaften Ergebnissen. Die Sensitivität und Präzision dieses Assays wird erheblich beeinflusst von der korrekten Durchführung des Waschschriffes!
- **Testdurchführung mit vollautomatischen Analysegeräten:**
Eine automatisierte Testdurchführung mit vollautomatischen, systemoffenen Analysegeräten ist möglich. Die Kombination muss jedoch vom Anwender validiert werden.

6.2 Testdurchführung

Jeder Lauf muss eine Standardkurve beinhalten.

Die Kontrollen dienen der internen Überprüfung der Zuverlässigkeit des Testverfahrens. Sie müssen bei jedem Testdurchlauf gemessen werden.

Das angegebene Testverfahren beschreibt die manuelle Abarbeitung.

Wichtiger Hinweis: Die Genauigkeit dieses Tests wird maßgeblich durch die korrekte Inkubationstemperatur und dem richtigen Pipettiervolumen beeinflusst!

1. Die benötigte Anzahl der Mikrotiter-Wells in der Halterung befestigen.
2. **Je 50 µL Standard, Control und Probe** mit neuen Plastikspitzen in die entsprechenden Wells pipettieren.
3. **50 µL Assay Buffer** in jedes Well zugeben.
Für 10 Sekunden gut schütteln. Es ist sehr wichtig, in diesem Schritt eine komplette Durchmischung zu erreichen.
4. **60 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
5. **100 µL Enzyme Conjugate** in jedes Well zugeben.
Für 10 Sekunden gut schütteln. Es ist sehr wichtig, in diesem Schritt eine komplette Durchmischung zu erreichen.
6. **60 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
7. Die Vertiefungen folgendermaßen waschen:
Wenn der Waschschrift manuell durchgeführt wird:
Den Inhalt der Wells kräftig ausschütteln.
Wells **4-mal** mit **300 µL** verdünnter *Wash Solution* pro Well waschen.

Bei Verwendung eines Waschautomaten:
Wells **4-mal** mit **400 µL** verdünnter *Wash Solution* pro Well waschen.

Am Ende des Waschschrifts die Vertiefungen immer kräftig auf saugfähigem Papier ausklopfen, um verbliebene Flüssigkeit zu entfernen.
8. **100 µL Substrate Solution** in jedes Well pipettieren.
9. **30 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
10. Die enzymatische Reaktion durch Zugabe von **100 µL Stop Solution** in jedes Well abstoppen.
11. Die Optische Dichte (OD) der Lösung in jedem Well bei **450 nm (Mess-Wellenlänge)** und bei **620 nm oder 630 nm (Referenzwellenlänge für die empfohlene Hintergrundsubtraktion)** mit einem Mikrotiterplattenleser bestimmen.
Es wird empfohlen, die Vertiefungen **innerhalb von 10 Minuten** nach Zugabe der Stopplösung abzulesen.

6.3 Ergebnisse

1. Die Konzentration der Proben kann direkt von der Standardkurve abgelesen werden.
2. Bei Doppelbestimmungen muss für jeden Standard, jede Kontrolle und Proben der Mittelwert der beiden OD-Werte verwendet werden. Weichen die beiden Werte erheblich voneinander ab, empfiehlt DEMEDITEC, die Proben erneut zu testen.
3. Proben mit Konzentrationen, die den höchsten Standard überschreiten, können mit *Zero Standard* weiter verdünnt und wie unter "Testdurchführung" beschrieben erneut gemessen werden oder müssen als > 400 pg/mL angegeben werden. Bei der Berechnung der Konzentrationen muss dieser Verdünnungsfaktor berücksichtigt werden.
4. Automatische Methode:
Die in der Gebrauchsanweisung angegebenen Ergebnisse wurden automatisch mit Hilfe der 4-Parameter-Gleichung bestimmt. (4-Parameter-Rodbard oder 4-Parameter-Marquardt sind die bevorzugten Methoden.) Andere Auswertungsfunktionen können leicht abweichende Werte ergeben.
5. Manuelle Methode:
Erstellen Sie unter Verwendung von halblogarithmischem Millimeterpapier eine Standardkurve, indem Sie die (mittlere) OD jedes Standards gegen seine Konzentration auftragen, wobei der OD-Wert auf der vertikalen (Y) Achse und die Konzentration auf der horizontalen (X) Achse liegt. Bestimmen Sie die entsprechende Probenkonzentration anhand der Standardkurve, indem Sie den (mittleren) OD-Wert für jede Probe verwenden.

7 QUALITÄTSKONTROLLE

Eine gute Qualitätssicherung im Labor erfordert, dass mit jeder Standardkurve Kontrollen mitgeführt werden. Eine statistisch signifikante Anzahl von Kontrollen sollte gemessen werden, um Mittelwerte und Akzeptanzbereiche zu ermitteln und damit eine korrekte Testdurchführung zu gewährleisten. Durch die Verwendung von Kontrollproben wird eine Tag-zu-Tag-Überprüfung der Ergebnisse erzielt. Die Kontrollen mit den entsprechenden Ergebnissen des QC-Labors sind im Analysenzertifikat (CoA), das dem Kit beiliegt, aufgeführt. Die im CoA angegebenen Werte und Bereiche beziehen sich stets auf die aktuelle Kitcharge und sollen zum direkten Vergleich der Ergebnisse verwendet werden. Es sollten geeignete statistische Methoden zur Analyse von Kontrollwerten und Trends angewendet werden. Wenn die Ergebnisse des Assays nicht mit den angegebenen Akzeptanzbereichen des Kontrollmaterials übereinstimmen, sollten die Ergebnisse als ungültig eingestuft werden. In diesem Fall überprüfen Sie bitte die folgenden Bereiche: Pipetten und Zeitnehmer, Photometer, Verfallsdaten der Reagenzien, Lagerungs- und Inkubationsbedingungen, Absaug- und Waschmethode. Sollten nach Überprüfung der vorgenannten Bereiche keine Fehler erkennbar sein, setzen Sie sich bitte mit Ihrem Lieferanten oder direkt mit der Firma DEMEDITEC in Verbindung.

8 LEISTUNGSMERKMALE

8.1 Spezifität der Antikörper (Kreuzreaktivität)

Ausführliche Informationen zu den getesteten Substanzen finden Sie in der englischen Version der Gebrauchsanweisung.

8.2 Sensitivität

„Limit of Blank“ (LoB)	3,146 pg/mL
Nachweisgrenze (LoD)	5,583 pg/mL
Quantifizierungsgrenze (LoQ)	7,445 pg/mL
Messbereich	5,583 pg/mL – 400 pg/mL
Linearer Bereich	13,00 pg/mL – 400 pg/mL

Die Daten zu:

8.3 Reproduzierbarkeit (Präzision)

8.4 Wiederfindung

8.5 Linearität

entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Version der Gebrauchsanweisung.

9 GRENZEN DES VERFAHRENS

Zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, wenn das Testverfahren mit vollständigem Verständnis der Gebrauchsanweisung und unter Einhaltung der Richtlinien zur Qualitätssicherung im Labor durchgeführt wird.

Jede unsachgemäße Handhabung der Proben oder eine Modifikation dieses Tests kann die Ergebnisse beeinflussen.

9.1 Störsubstanzen

Hämoglobin (bis zu 4 mg/mL), Bilirubin (bis zu 0,063 mg/mL) und Triglyceride (bis zu 7,5 mg/mL) haben keinen Einfluss auf das Testergebnis. Zurzeit sind uns keine weiteren Substanzen bekannt, die einen Einfluss auf die Bestimmung von Estradiol in einer Probe haben.

9.2 High-Dose-Hook-Effekt

Ein Hook-Effekt tritt in diesem Test bis zu einer Konzentration von 8000 pg/mL Estradiol nicht auf.

10 RECHTLICHE GRUNDLAGEN

10.1 Zuverlässigkeit der Ergebnisse

Der Test muss exakt gemäß der Testanleitung des Herstellers abgearbeitet werden. Darüber hinaus muss der Anwender die Richtlinien zur Qualitätssicherung im Labor einhalten. Dies betrifft besonders den Gebrauch der Kontrollreagenzien. Es ist sehr wichtig, bei der Testdurchführung stets eine ausreichende Anzahl Kontrollen zur Überprüfung der Genauigkeit und Präzision mitzuführen. Die Testergebnisse sind nur gültig, wenn alle Kontrollen in den vorgegebenen Bereichen liegen, und wenn alle anderen Testparameter die vorgegebenen Spezifikationen für diesen Assay erfüllen.

Wenn bezüglich eines Ergebnisses Zweifel oder Bedenken bestehen, setzen Sie sich bitte mit der Firma DEMEDITEC in Verbindung.

10.2 Haftung

Jegliche Veränderungen des Testkits und/oder Austausch oder Vermischung von Komponenten unterschiedlicher Chargen von einem Testkit zu einem anderen, können die gewünschten Ergebnisse und die Gültigkeit des gesamten Tests negativ beeinflussen. Solche Veränderungen und/oder Austausch haben den Ausschluss jeglicher Ersatzansprüche zur Folge. Im Falle jeglicher Reklamation ist die Haftung des Herstellers maximal auf den Wert des Testkits beschränkt. Jegliche Schäden, die während des Transports am Kit entstanden sind, unterliegen nicht der Haftung des Herstellers.

1 FINALIDAD PREVISTA

El **DEMEDIATEC Estradiol Sensitive ELISA** es un inmunoensayo enzimático manual para realizar medición de estradiol en suero o plasma humano (EDTA, heparina de litio o plasma citrado).

Para uso con fines de investigación. Para uso profesional de laboratorio.

2 PRINCIPIO DEL TEST

El DEMEDIATEC Estradiol Sensitive ELISA es un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) en fase sólida basado en el **principio de unión competitiva**. Los pocillos de microtítulo están recubiertos de un anticuerpo **policlonal** (conejo) que tiene como diana las **zonas antigénicas** de la molécula de estradiol. Durante la primera incubación, la muestra se incuba junto con el tampón de ensayo en el pocillo recubierto. A continuación, se añade el conjugado enzimático (estradiol conjugado con peroxidasa de rábano). El estradiol en la muestra compite con el conjugado enzimático añadido, para la unión con el anticuerpo recubierto. Tras un proceso de lavado para eliminar cualquier sustancia sin unir, la fase sólida se incuba con la solución de sustrato. La reacción colorimétrica se detiene añadiendo una solución de parada, y se realiza una medición de la densidad óptica (DO) del producto amarillo resultante. La intensidad del color es inversamente proporcional a la concentración del analito en la muestra. Se crea una curva estándar cotejando los valores de DO con las concentraciones de estándares, y las concentraciones de las muestras desconocidas se determinan usando esta curva estándar.

3 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Este kit es sólo para uso en investigación. Para uso profesional exclusivo de laboratorio.
- Antes de iniciar el ensayo, lea todas las instrucciones de uso detenidamente. Utilice la versión en vigor de las instrucciones de uso suministradas junto con el kit. Asegúrese de que todo está claro.
- No mezcle ni utilice componentes de kits con números de lote distintos. No es aconsejable intercambiar pocillos de placas diferentes, aun cuando pertenezcan al mismo lote. Puede que los kits se hayan enviado o almacenado en unas condiciones distintas y existe la posibilidad de que las características de unión de las placas sean ligeramente diferentes.
- No use los reactivos una vez superada la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del kit.
- No reutilice los pocillos de microtítulo.
- No use reactivos de otros fabricantes junto con los reactivos de este kit de prueba.
- Todos los reactivos incluidos en este kit son líquidos transparentes. La solución de sustrato es transparente e incolora. Cualquier cambio en su apariencia podría afectar al rendimiento de la prueba. Si así es, póngase en contacto con DEMEDIATEC.
- Una contaminación microbiana de los reactivos o de las muestras podría arrojar resultados falsos.
- Antes de iniciar la prueba, deje que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (entre 20 °C y 26 °C). La temperatura afectará a las lecturas de densidad óptica del ensayo.
- Todos los volúmenes indicados se deben respetar siguiendo el protocolo. Solo se obtendrán unos resultados de prueba óptimos si se usan pipetas calibradas y lectores de placas de microtítulo.
- Utilice depósitos solo con reactivos únicos. Esto es especialmente cierto en el caso de los depósitos de sustratos. Si se usa un depósito para dispensar una solución de sustrato que ya se usó previamente con la solución de conjugado, la solución podría acabar tiznada. No vierta reactivo de nuevo a su vial original, ya que podría producirse una contaminación del reactivo.

Precauciones generales

- Siga las directrices de garantía de calidad y seguridad en el laboratorio.
- No pipete nunca con la boca y evite el contacto con los reactivos y las muestras con la piel y las membranas mucosas.
- No fume, coma, beba ni aplique sustancias cosméticas en las áreas de manipulación de muestras o reactivos del kit.
- Utilice batas de laboratorio y guantes de látex desechables al manipular reactivos y, si fuera necesario, gafas protectoras también.

Información de riesgo biológico

- Todos los reactivos de este kit de prueba que contienen plasma o suero humano se han analizado y se ha confirmado su negativo en HIV I/II, HBsAg y HCV mediante procedimientos aprobados de la FDA. Pese a ello, no existe ningún método de prueba conocido que ofrezca garantía total de no presencia de agentes infecciosos.
- El producto contiene materia de origen animal certificado como aparentemente libre de enfermedades contagiosas o infecciosas y parásitos nocivos.
- Los componentes bovinos proceden de países en los que no se han notificado casos de EEB (encefalopatía espongiforme bovina).
- Todas las materias y muestras de origen humano o animal deben tratarse como si existiera la posibilidad de transmisión de enfermedades infecciosas.
- La manipulación de material debe realizarse siguiendo los procedimientos establecidos según la normativa o instrucción de seguridad y riesgo biológico nacional pertinente. Los residuos deben desecharse respetando las normativas o regulaciones locales correspondientes.

Información sobre riesgos químicos y la clasificación de riesgos

- Algunos reactivos contienen conservantes con niveles de concentración no declarables. Aún así, en caso de contacto con los ojos o la piel, enjuague de inmediato con agua.
- La solución de sustrato contiene un ingrediente con niveles de concentración no declarables que puede provocar irritaciones de los ojos graves. En caso de posible contacto con los ojos, enjuáguelos concienzudamente de inmediato con agua o con algún colirio. Tras un contacto con la piel, lave con abundante agua. Quítese la ropa contaminada y lávela antes de volver a utilizarla.
- Evite el contacto con una solución de parada que contenga < 5 % H₂SO₄. Puede provocar irritación cutánea o quemaduras.
- Los componentes químicos y los reactivos preparados o usados se deben tratar como desecho peligroso siguiendo la normativa o instrucción de seguridad nacional pertinente.
- Este producto no contiene sustancias con propiedades carcinogénicas, mutagénicas o tóxicas para la reproducción (CMR).

Los reactivos de este kit de prueba NO contienen sustancias peligrosas con niveles de concentración que deban declararse. No es necesario clasificarlo o etiquetarlo a tal efecto. Para obtener información detallada, consulte la ficha de datos de seguridad, que puede solicitar directamente a DEMEDITEC.

4 MATERIAL

4.1 Material suministrado junto con el kit

1. **SORB** **MT** **Microtiterwells**, 12 x 8 pocillos (por separado), listo para usar; Placa de microtítulo, recubierta de anticuerpo de anti-estradiol (policlonal).
2. **CAL** **0** **Zero Standard** *, 1 x 3 mL, listo para usar; Estándar cero, Concentración: 0 pg/mL.
3. **CAL** **1** – **6** **Standard** * (**Standard 1 – 6**), 6 x 1 mL, listo para usar; Estándares, concentraciones: 10 – 25 – 50 – 100 – 200 – 400 pg/mL, conversión: 1 pg/mL = 3,671 pmol/L, *calibrado con el siguiente material de referencia: 17β Estradiol (E-060-1ML, Cerilliant)*.
4. **CONTROL** **low** & **high** **Control Low & High** *, 2 x 1 mL, listo para usar; Controles, *para obtener los intervalos y valores de control, consulte la etiqueta del vial o el certificado de análisis (CoA)*.
5. **BUF** **Assay Buffer** *, 1 x 7 mL, listo para usar; Tampón de ensayo.
6. **ENZ** **CONJ** **Enzyme Conjugate** *, 1 x 14 mL, listo para usar; Conjugado enzimático, estradiol conjugado con peroxidasa de rábano.
7. **SUB** **TMB** **Substrate Solution**, 1 x 14 mL, listo para usar; Solución de sustrato, contiene 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). *Mantener lejos de la luz solar directa*.
8. **STOP** **SOLN** **Stop Solution**, 1 x 14 mL, listo para usar; Solución de parada, contiene < 5 % H₂SO₄; *Evite el contacto con la solución de parada. Puede provocar irritación cutánea o quemaduras*.
9. **WASH** **SOLN** **40x** **Wash Solution** *, 1 x 30 mL, *ver «Preparación de los reactivos»*; Solución de lavado, Concentrado 40X.
10. 1x **Instrucciones de uso (IFU)**; 1x **Certificado de análisis (CoA)**

* Contiene conservante sin mercurio.

4.2 Materiales necesarios no suministrados

- Un lector de placas de microtítulo calibrado (450 nm, con una longitud de onda de referencia de entre 620 nm y 630 nm)
- Micropipetas de precisión variable calibradas
- Equipamiento manual o automático para lavar los pocillos de placa de microtítulo
- Papel absorbente
- Agua destilada
- Cronómetro
- Papel cuadriculado o software para la reducción de datos

4.3 Almacenamiento y estabilidad del kit

Los reactivos y kits sin abrir, así como **los reactivos abiertos**, se deben almacenar a una temperatura entre 2 °C y 8 °C.

La microplaca siempre debe almacenarse en la bolsa de aluminio con cierre que contiene desecante. No abra la bolsa hasta que alcance la temperatura ambiente. La placa de microtítulo consta de 12 tiras individuales. Cada tira está dividida en 8 pocillos individuales. Los pocillos sin utilizar deben volverse a colocar inmediatamente en la bolsa de aluminio con el desecante y almacenarse de nuevo bien cerrados a 2 °C y 8 °C. Una vez abiertos, los viales de reactivo se deben volver a cerrar herméticamente.

	Temperatura de almacenamiento	Estabilidad
Kit y reactivos sin abrir	2 °C a 8 °C	Hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta impresa. No use los reactivos una vez superada esta fecha.
Kit abierto	2 °C a 8 °C	8 semanas

4.4 Preparación de los reactivos

Antes de usarlos, espere a que todos los reactivos y la cantidad de bandas necesaria estén a temperatura ambiente (20 °C a 26 °C).

Wash Solution (Solución de lavado)

Añada agua destilada a la solución de lavado concentrada a 40X (*Wash Solution*). Diluya 30 mL de solución de lavado concentrada con 1170 mL de agua destilada hasta llegar a un volumen final de 1200 mL.

Estabilidad tras la dilución:	entre 20 °C y 26 °C	1 semana
-------------------------------	---------------------	----------

4.5 Eliminación del kit

El kit y todo los materiales/reactivos usados deberán desecharse siguiendo la regulación nacional correspondiente. En el apartado 13 de la ficha de datos de seguridad encontrará información general relativa a este producto.

4.6 Kits de prueba dañados

En caso de que el kit de prueba o alguno de sus componentes estén dañados, se deberá comunicar a DEMEDITEC por escrito como máximo una semana después de la recepción del kit. Los componentes dañados no deben usarse en ninguna serie de prueba. Deberán guardarse hasta que el asunto se resuelva. Tras ello, deberán desecharse siguiendo la regulación oficial en vigor.

5 TOMA DE LA MUESTRA, ALMACENAMIENTO Y PREPARACIÓN

En este ensayo pueden ser usados los tipos de muestra detallados a continuación:

Suero o plasma humano (plasma con EDTA, con heparina de litio o con citrato).

En el ensayo no deben usarse muestras que contengan azida de sodio. En términos generales, absténgase de usar muestras hemolíticas, lipémicas o con ictericia. Para obtener más información, consulte el capítulo «*Sustancias interferentes*».

5.1 Toma de muestras

Suero: Extraiga sangre mediante venipuntura (p. ej., Sarstedt Monovette para suero), deje que coagule y separe el suero mediante centrifugado a temperatura ambiente. No centrifugue hasta que la coagulación se realice por completo. Puede que las muestras de sujetos sometidos a terapia anticoagulante necesiten más tiempo para coagularse.

Plasma: Se debe extraer sangre total en tubos de centrifugado que contengan anticoagulante (p. ej., Sarstedt Monovette con la preparación de plasma que corresponda) y centrifugarse inmediatamente después de haberse extraído.

La sangre total no debe congelarse antes del centrifugado.

5.2 Almacenamiento de muestras

Las muestras deben almacenarse cerradas herméticamente antes de realizar el ensayo. Si se van a almacenar congeladas, se pueden congelar solo una vez. Las muestras descongeladas se deben invertir varias veces antes de analizarlas.

Estabilidad	entre 2 °C y 8 °C	7 días
	a -20 °C (en alícuotas)	hasta 12 meses

5.3 Preparación de las muestras

Las muestras se pueden analizar sin ninguna preparación adicional.

Se esperan concentraciones muy elevadas de estradiol durante el embarazo. Por lo tanto, es necesario diluir las muestras de dichos sujetos.

Ejemplo:

Dilución 1:100: 10 µL muestra + 990 µL *Zero Standard*; *Mezcle bien.*

6 PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

6.1 Notas sobre el procedimiento

- Todos los reactivos y muestras deben estar a temperatura ambiente (entre 20 °C y 26 °C) antes de usarlos.
- Todos los reactivos deben mezclarse sin que generen espuma.
- No intercambie los tapones de los viales de reactivo para evitar posibles contaminaciones cruzadas.
- Use puntas de pipeta de plástico desechables nuevas con cada estándar, control o muestra para evitar posibles contaminaciones por arrastre.
- Para evitar posibles contaminaciones cruzadas y resultados engañosamente elevados, pipetee las muestras y dispense conjugado sin salpicar de forma minuciosa en el fondo de los pocillos.
- Mezcle bien el contenido de los pocillos de la placa de microtítulo para procurar que los resultados de la prueba sean correctos.
- No deje que los pocillos se sequen durante el ensayo; añada reactivo inmediatamente una vez acabados los pasos de enjuagado.
- Una vez iniciada la prueba, todos los pasos se deben completar de forma ininterrumpida y en la misma secuencia de cada paso.
- La reacción enzimática es linealmente proporcional al tiempo y la temperatura.
- La densidad óptica es una función del tiempo y la temperatura de incubación. Es importante respetar los tiempos y las temperaturas de incubación que se indican en el capítulo «Procedimiento de la prueba».
- Antes de iniciar el ensayo, se recomienda tener todos los reactivos listos, los tapones quitados, todos los pocillos necesarios fijados en el soporte, etc. De este modo, se asegurará de que el tiempo que va a transcurrir en cada paso de pipeteo es el mismo y sin interrupción alguna.
- **Nota importante sobre el procedimiento de lavado:**
El lavado es tremendamente importante. Con unos pocillos mal lavados se obtendrán resultados engañosos. La sensibilidad y la precisión de este ensayo dependen enormemente de un correcto rendimiento del procedimiento de lavado.
- **Rendimiento de pruebas mediante aparatos de análisis completamente automáticos:**
Se puede obtener un rendimiento de pruebas automático usando aparatos de análisis de sistema abierto y completamente automáticos. Sin embargo, la combinación debe estar validada por el usuario.

6.2 Procedimiento de la prueba

Cada serie debe incluir una curva estándar.

Los controles actúan como controles internos de la fiabilidad del procedimiento del test. Se deben analizar en cada serie de prueba.

El procedimiento de prueba aquí indicado describe un procesamiento manual.

Nota importante: La precisión de este ensayo depende enormemente de que haya una temperatura de incubación correcta y de que los volúmenes de pipeteo sean correctos.

1. Fije la cantidad de pocillos de microtítulo que desee en el soporte del bastidor.
2. Pipetee **50 µL** de cada **Standard**, cada **Control** y cada **muestra** con puntas nuevas desechables en los pocillos correspondientes.
3. Añada **50 µL** de **Assay Buffer** en cada pocillo.
Mezcle bien durante 10 segundos. En este paso es importante que todo quede bien mezclado.
4. Incube durante **60 minutos** a temperatura ambiente.
5. Añada **100 µL** de **Enzyme Conjugate** en cada pocillo.
Mezcle bien durante 10 segundos. En este paso es importante que todo quede bien mezclado.
6. Incube durante **60 minutos** a temperatura ambiente.
7. Lave los pocillos del siguiente modo:
Si el paso de lavado se efectúa manualmente:
Agite enérgicamente el contenido de los pocillos.
Enjuague los pocillos **4 veces** con **300 µL** de solución de lavado diluida por pocillo.

Si se usa un aparato de lavado automático de placas:

Enjuague los pocillos **4 veces** con **400 µL** de solución de lavado diluida por pocillo.

Al término de cada paso de lavado, frote bien los pocillos con papel absorbente para eliminar las gotas residuales!

8. Pipetee **100 µL** de **Substrate Solution** en cada pocillo.
9. Incube durante **30 minutos** a temperatura ambiente.
10. Detenga la reacción enzimática añadiendo **100 µL** de **Stop Solution** a cada pocillo.
11. Mida la densidad óptica (DO) de la solución a **450 nm (longitud de onda de medición)** y entre **620 nm o 630 nm (longitud de onda de referencia para la sustracción de fondo recomendada)** con un lector de placas de microtítulo. Se recomienda realizar la lectura de los pocillos **en los 10 minutos** siguientes a la incorporación de la solución de parada.

6.3 Resultados

1. La concentración de las muestras se puede leer directamente de la curva estándar.
2. Para determinar los duplicados, se debe hacer la media de los dos valores de densidad óptica (DO) de cada estándar, cada control y cada muestra. Si estos dos valores se desvían considerablemente el uno de otro, DEMEDITEC recomienda volver a analizar las muestras.
3. Las muestras con una concentración superior al estándar más elevado pueden diluirse adicionalmente con **Zero Standard** y volverse a analizar siguiendo las instrucciones de «Procedimiento de la prueba», o bien comunicarse como **> 400 pg/mL**.
En el cálculo de las concentraciones se debe tener en cuenta este factor de dilución.
4. Método automático:
Los resultados de estas instrucciones de uso se han calculado automáticamente mediante un ajuste de curva de una función logística de cuatro parámetros (4PL). (Los métodos de preferencia son 4PL Rodbard o 4PL Marquardt.) Otras funciones de reducción de datos podrían arrojar resultados ligeramente distintos.
5. Método manual:
Usando un papel cuadriculado semilogarítmico, construya una curva estándar trazando el valor medio de densidad óptica obtenido de cada estándar en comparación con su concentración con un valor de densidad óptica en el eje vertical (Y) y la concentración en el eje horizontal (X).
Determine la concentración de muestra correspondiente de la curva estándar usando el valor medio de densidad óptica de cada muestra.

7 CONTROL DE CALIDAD

Una buena garantía de calidad en el laboratorio requiere el uso de controles con cada curva estándar. Es conveniente analizar una cantidad de controles estadísticamente significativa para poder establecer unos valores de media y unos intervalos aceptables que favorezcan un rendimiento adecuado. El uso de muestras de control es aconsejable para garantizar la validez de los resultados cada día. Los controles y los resultados correspondientes del laboratorio de control de calidad figuran en el certificado de análisis (CoA) incluido con el kit. Los valores e intervalos reflejados en un CoA siempre se corresponden con el lote de kit actual, y deben usarse para cotejar los resultados de forma directa. Emplee unos métodos estadísticos adecuados para analizar las tendencias y los valores de control. Si los resultados del ensayo no coinciden con los intervalos aceptables establecidos del material de control, los resultados deben considerarse como no válidos. En tal caso, compruebe las siguientes cuestiones técnicas: Aparatos de pipeteo y temporizadores; fotómetro, fechas de caducidad de los reactivos, condiciones de almacenamiento e incubación, métodos de aspiración y lavado. Si, una vez comprobadas todas estas cuestiones, sigue sin encontrar errores, póngase en contacto su distribuidor o directamente con DEMEDITEC.

8 CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

8.1 Especificidad de los anticuerpos (reactividad cruzada)

En la versión en inglés de las instrucciones de uso encontrará información pormenorizada sobre las sustancias analizadas.

8.2 Sensibilidad

Límite de blanco (LoB)	3,146 pg/mL
Límite de detección (LoD)	5,583 pg/mL
Límite de cuantificación (LoQ)	7,445 pg/mL
Intervalo de medición	5,583 pg/mL – 400 pg/mL
Intervalo lineal	13,00 pg/mL – 400 pg/mL

Encontrará información sobre lo siguiente:

8.3 Reproducibilidad (precisión)

8.4 Recuperación

8.5 Linealidad

en la versión en inglés detallada de las instrucciones de uso.

9 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Se obtendrán unos resultados fiables y reproducibles si el procedimiento de ensayo se lleva a cabo habiendo comprendido completamente las instrucciones de uso y observando las directrices de garantía de calidad del laboratorio. Manipular las muestras de forma indebida o alterar esta prueba podría influir en los resultados.

9.1 Sustancias interferentes

La hemoglobina (hasta 4 mg/mL), la bilirrubina (hasta 0,063 mg/mL) y los triglicéridos (hasta 7,5 mg/mL) no tienen efecto alguno en los resultados del ensayo. Hasta la fecha no se tiene conocimiento de ninguna otra sustancia que tenga efecto en las mediciones de estradiol de una muestra.

9.2 Efecto gancho en concentraciones elevadas

No se aprecia ningún efecto gancho en concentraciones elevadas de hasta 8000 pg/mL de estradiol.

10 CUESTIONES LEGALES

10.1 Fiabilidad de los resultados

La prueba se debe realizar siguiendo exactamente las instrucciones de uso del fabricante. Es más, el usuario debe cumplir las directrices de garantía de calidad del laboratorio aplicables. Esto es especialmente relevante al usar reactivos de control. Es importante incluir siempre en el procedimiento de la prueba una cantidad suficiente de controles que validen la precisión de la prueba. Los resultados de la prueba serán válidos únicamente si todos los controles están dentro de los intervalos especificados y si todos los demás parámetros de la prueba están dentro también de las especificaciones del ensayo pertinentes. Si existe alguna duda o reparo en relación con un resultado, póngase en contacto con DEMEDITEC.

10.2 Responsabilidad

Cualquier alteración del kit de prueba y/o intercambio o mezcla de componentes de lotes distintos entre un kit de prueba y otro podría afectar negativamente a los resultados previstos y a la validez de la prueba en general. Tal alteración o intercambio invalidará cualquier reclamación de sustitución. Con independencia de todo esto, en caso de reclamación, la responsabilidad del fabricante no superará el valor del kit de prueba. Cualquier daño causado al kit de prueba durante su transporte quedará fuera de la responsabilidad del fabricante.

1 DESTINATION DU DISPOSITIF

Le **DEMEDITEC Estradiol Sensitive ELISA** est un dosage immunoenzymatique manuel pour la mesure de l'estradiol dans le sérum ou le plasma humain (plasma EDTA, avec héparine de lithium ou citraté).

Destiné à la recherche. Destiné à un usage professionnel en laboratoire.

2 PRINCIPE DU TEST

Le DEMEDITEC Estradiol Sensitive ELISA est un dosage d'immunoabsorption par enzyme (ELISA) en phase solide reposant sur **le principe de la liaison compétitive**. Les puits de microtitration sont recouverts d'un anticorps polyclonal (lapin) dirigé vers les sites antigéniques de la molécule de l'estradiol. Lors de la première incubation, l'échantillon est incubé avec le tampon de dosage dans le puits enrobé. Ensuite, le conjugué enzymatique (estradiol conjugué à la peroxydase de raifort) est ajouté. L'estradiol présent dans l'échantillon fait concurrence au conjugué enzymatique ajouté pour la liaison avec l'anticorps du revêtement. Après une étape de lavage pour éliminer toutes les substances non liées, la phase solide est incubée avec la solution de substrat. La réaction colorimétrique est arrêtée par l'ajout d'une solution d'arrêt, et la densité optique (DO) du produit jaune résultant est mesurée. L'intensité de couleur est inversement proportionnelle à la concentration de l'analyte dans l'échantillon. Une courbe standard est construite en traçant les valeurs de DO en fonction des concentrations des standards, et les concentrations des échantillons inconnus sont déterminées en utilisant cette courbe standard.

3 AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS

- Ce kit est destiné uniquement à des fins de recherche. Destiné uniquement à un usage professionnel en laboratoire.
- Lire attentivement toutes les instructions avant de commencer le dosage. Utiliser la version valide de la notice d'utilisation fournie avec la trousse. S'assurer que tout a bien été compris.
- Ne pas mélanger les composants des trousse et ne pas utiliser de composants de trousse portant des numéros de lot différents. Il est recommandé de ne pas intervertir les puits de différentes plaques, même s'ils appartiennent au même lot. Les trousse ont peut-être été expédiés ou conservés dans des conditions différentes et les caractéristiques de liaison des plaques peuvent légèrement différer.
- Ne pas utiliser de réactifs au-delà de la date d'expiration indiquée sur les étiquettes de la trousse.
- Ne pas réutiliser les puits de microtitration.
- Les réactifs d'autres fabricants ne doivent pas être utilisés avec les réactifs de cette trousse de test.
- Tous les réactifs de cette trousse sont des liquides clairs, la solution de substrat est claire et incolore. Des variations dans son apparence peuvent affecter la performance du test. Dans un tel cas, contactez DEMEDITEC.
- La contamination microbienne des réactifs ou des échantillons peut entraîner des résultats erronés.
- Laisser les réactifs atteindre la température ambiante (20 °C à 26 °C) avant de commencer le test. La température affecte la lecture de la densité optique du test.
- Tous les volumes indiqués doivent être réalisés conformément au protocole. Des résultats de tests optimaux ne sont possibles qu'avec des pipettes et des lecteurs de microplaques calibrés.
- N'utilisez les réservoirs que pour des réactifs uniques. Ceci s'applique particulièrement aux réservoirs de substrat. L'utilisation d'un réservoir pour distribuer une solution de substrat qui avait été précédemment utilisé pour la solution de conjugué peut colorer la solution. Ne pas reverser les réactifs dans les flacons d'origine, car cela pourrait contaminer les réactifs.

Précautions générales

- Suivre les directives relatives à l'assurance qualité et à la sécurité au laboratoire.
- Ne jamais les pipeter à la bouche et éviter tout contact des réactifs et des échantillons avec la peau ou les muqueuses.
- Ne pas fumer, boire, manger ni utiliser des cosmétiques dans les zones de manipulation des échantillons ou de réactifs de la trousse.
- Porter des blouses de laboratoire et des gants en latex jetables lors de la manipulation des échantillons et des réactifs et, si nécessaire, des lunettes de sécurité.

Informations sur les risques biologiques

- Tous les réactifs de cette trousse de test contenant du sérum ou du plasma humain ont été testés et confirmés négatifs pour le VIH I/II, le HBsAg et le VHC par les procédures approuvées par la FDA. Cependant, aucune méthode d'essai connue ne peut offrir une garantie totale qu'aucun agent infectieux n'est présent.
- Le dispositif contient des matières d'origine animale, qui sont certifiées apparemment exemptes de maladies infectieuses ou contagieuses et de parasites nuisibles.
- Les composants bovins proviennent de pays où l'ESB (encéphalopathie spongiforme bovine) n'a pas été signalée.
- Tous les matériaux et échantillons d'origine humaine ou animale doivent être manipulés comme susceptibles de transmettre des maladies infectieuses.
- La manipulation doit être conforme aux procédures définies par les directives ou règlements nationaux concernant la sécurité et les déchets à risque biologique. Les déchets doivent être mis au rebut conformément aux règles et réglementations locales.

Informations sur les risques chimiques et classification des risques

- Certains réactifs contiennent des agents de conservation à des concentrations non soumises à une obligation de déclaration. Toutefois, en cas de contact avec les yeux ou la peau, rincer immédiatement à l'eau.
- La solution de substrat contient un ingrédient à des concentrations non soumises à une obligation de déclaration, qui provoque une grave irritation des yeux. En cas de contact possible avec les yeux, rincer immédiatement et soigneusement au moyen d'une douche oculaire ou à l'eau. En cas de contact avec la peau, rincer abondamment à l'eau. Enlever les vêtements contaminés et les laver avant de les porter de nouveau.
- Éviter le contact avec la solution d'arrêt, qui contient < 5 % de H₂SO₄. Elle pourrait provoquer une irritation de la peau et des brûlures.
- Les produits chimiques et les réactifs préparés ou utilisés doivent être considérés comme des déchets dangereux conformément à la réglementation ou aux directives de sécurité nationales.
- Ce produit ne contient pas de substances ayant des propriétés cancérogènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction (CMR).

AUCUN des réactifs de cette trousse de test ne contient de substances dangereuses à des concentrations soumises à une obligation de déclaration; une classification et un étiquetage n'est pas requis.

Pour des informations détaillées, veuillez consulter la fiche de données de sécurité, disponible sur demande directement auprès de DEMEDITEC.

4 MATÉRIAUX

4.1 Matériaux fournis avec la trousse

1. **SORB** **MT** **Microtiterwells**, 12 x 8 puits (divisibles), prêt à l'emploi; Microplaque, recouvert d'un anticorps anti-oestradiol (polyclonal)..
2. **CAL** **0** **Zero Standard** *, 1 x 3 mL, prêt à l'emploi; Zero Standard, concentration: 0 pg/mL.
3. **CAL** **1 – 6** **Standard** * (**Standard 1 – 6**), 6 x 1 mL, prêt à l'emploi; Standards, concentrations: 10 – 25 – 50 – 100 – 200 – 400 pg/mL, conversion: 1 pg/mL = 3,671 pmol/L, *calibré par rapport au matériau de référence suivant: 17 β Estradiol (E-060-1ML, Cerilliant).*
4. **CONTROL** **low** & **high** **Control Low & High** *, 2 x 1 mL, prêt à l'emploi; Contrôles, *pour les valeurs de contrôle et les plages de valeurs, veuillez vous référer à l'étiquette du flacon ou au certificat d'analyse (CoA).*
5. **BUF** **Assay Buffer** *, 1 x 7 mL, prêt à l'emploi; Tampon d'essai.
6. **ENZ** **CONJ** **Enzyme Conjugate** *, 1 x 14 mL, prêt à l'emploi; Conjugué enzymatique, L'estradiol conjugué à de la peroxydase de raifort.
7. **SUB** **TMB** **Substrate Solution**, 1 x 14 mL, prêt à l'emploi; Solution de substrat, contient du 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB). *Tenir à l'écart de la lumière directe du soleil.*
8. **STOP** **SOLN** **Stop Solution**, 1 x 14 mL, prêt à l'emploi; Solution d'arrêt, contient < 5 % H₂SO₄; *Eviter les contacts avec la solution stop. Cela pourrait engendrer des irritations ou brûlures de la peau.*
9. **WASH** **SOLN** **40x** **Wash Solution** *, 1 x 30 mL, voir « Préparation des réactifs »; Solution de lavage, concentré 40X.
10. 1x **Notice d'utilisation (IFU)**; 1x **Certificat d'analyse (CoA)**

* Contient un agent de conservation sans mercure.

4.2 Matériel nécessaire mais non fourni

- Un lecteur de microplaques calibré (450 nm, avec une longueur d'onde de référence de 620 nm à 630 nm)
- Micropipettes calibrées à précision variable
- Équipement manuel ou automatique pour le rinçage des puits de microplaques
- Papier absorbant
- Eau distillée
- Minuterie
- Papier graphique ou logiciel pour la réduction des données

4.3 Stockage et stabilité du kit

Les kits et réactifs non ouverts ainsi que **les réactifs ouverts** doivent être conservés à une température entre 2 °C et 8 °C.

La microplaque doit toujours être conservée dans une poche en aluminium scellée contenant un absorbeur d'humidité. Ne pas ouvrir la poche avant qu'elle n'ait atteint la température ambiante. La microplaque est composée de 12 bandes individuelles. Chaque bande peut être divisée en 8 puits individuels. Les puits non utilisés doivent être immédiatement replacés dans la poche en aluminium contenant l'absorbeur d'humidité, scellés hermétiquement et conservés à une température comprise entre 2 °C et 8 °C. Une fois ouverts, les flacons de réactifs doivent être refermés hermétiquement.

	Température de stockage	Stabilité
Kit non ouvert et réactifs non ouverts	2 °C à 8 °C	Jusqu'à la date d'expiration imprimée sur l'étiquette. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de cette date !
Kit ouvert	2 °C à 8 °C	8 semaines

4.4 Préparation des réactifs

Amener tous les réactifs et le nombre requis de bandes à température ambiante (20 °C à 26 °C) avant de les utiliser.

Wash Solution (Solution de lavage)

Ajouter l'eau distillée à la solution de lavage concentrée à 40x (*Wash Solution*).

Diluer 30 mL de solution de lavage concentrée avec 1170 mL d'eau distillée pour un volume final de 1200 mL.

Stabilité après dilution:	entre 20 °C et 26 °C	1 semaine
---------------------------	----------------------	-----------

4.5 Élimination du kit

L'élimination du kit et de tout le matériel/tous les réactifs doit être conforme aux réglementations nationales. Des informations spécifiques au produit sont indiquées dans la fiche de données de sécurité, section 13.

4.6 Kits de tests endommagés

En cas de dommage du kit de tests ou de ses composants, DEMEDITEC doit en être informé par écrit, au plus tard une semaine après réception du kit. Les composants endommagés ne doivent pas être utilisés pour le test. Ils doivent être stockés jusqu'à ce qu'une solution adaptée ait été trouvée. Après cela, ils doivent être éliminés conformément à la réglementation en vigueur.

5 PRÉLÈVEMENT, STOCKAGE ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Le matériau d'échantillon suivant peut être utilisé dans ce test:

Sérum ou plasma humain (plasma EDTA, plasma avec héparine de lithium ou plasma citraté)

Les échantillons contenant de l'azoture de sodium ne doivent pas être utilisés dans le test.

En général, il faut éviter d'utiliser des échantillons hémolytiques, ictériques ou lipémiques. Pour de plus amples informations, se reporter au chapitre « *Substances interférentes* ».

5.1 Prélèvement des échantillons

Sérum: Prélever le sang par ponction veineuse (ex. Sarstedt Monovette pour le sérum), laisser coaguler et extraire le sérum par centrifugation à température ambiante. Ne pas centrifuger avant la coagulation complète. Le temps de coagulation peut être plus long chez les sujets sous traitement anticoagulant.

Plasma: Prélever le sang total dans des tubes de centrifugation contenant un anticoagulant (ex. Sarstedt Monovette avec la préparation de plasma adéquate) et centrifuger immédiatement après le prélèvement.

Le sang total ne doit pas être congelé avant la centrifugation.

5.2 Stockage des échantillons

Les échantillons doivent être conservés hermétiquement fermés avant d'effectuer le dosage. S'ils sont conservés au congélateur, ne les congeler qu'une seule fois. Les échantillons décongelés doivent être retournés plusieurs fois avant le test.

Stabilité:	entre 2 °C et 8 °C	7 jours
	à -20 °C (en aliquotes)	jusqu'à 12 mois

5.3 Préparation des échantillons

Les échantillons peuvent être dosés sans préparation supplémentaire.

Des concentrations très élevées d'estradiol sont attendues pendant la grossesse. Par conséquent, la dilution de échantillons de tels sujets sera nécessaire.

Exemple:

Dilution 1:100: 10 µL de l'échantillon + 990 µL *Zero Standard* (bien mélanger).

6 PROCÉDURE DE DOSAGE

6.1 Notes de procédure

- Tous les réactifs et échantillons doivent être amenés à température ambiante (entre 20 °C et 26 °C) avant d'être utilisés.
- Tous les réactifs et échantillons doivent être mélangés sans mousse.
- Ne pas interchanger les bouchons des flacons de réactifs pour éviter toute contamination croisée.
- Utiliser des embouts de pipette en plastique neufs pour chaque standard, contrôle ou échantillon afin d'éviter tout transfert.
- Pour éviter la contamination croisée et des résultats faussement élevés, pipeter les échantillons et distribuer le conjugué sans éclabousser précisément le fond des puits.
- Mélanger soigneusement le contenu des puits de la microplaque pour garantir de bons résultats.
- Ne pas laisser les puits sécher pendant le dosage ; ajouter les réactifs immédiatement après avoir terminé les étapes de rinçage.
- Une fois le test lancé, toutes les étapes doivent être réalisées sans interruption et dans le même ordre pour chaque étape.
- La réaction enzymatique est linéairement proportionnelle au temps et à la température.
- La densité optique dépend du temps d'incubation et de la température. Respecter les temps et températures d'incubation indiqués dans le chapitre « Procédure de test ».
- Avant de commencer le dosage, il est recommandé que tous les réactifs soient prêts, les bouchons retirés, tous les puits nécessaires fixés dans le support, etc. Cela permet de garantir un temps égal pour chaque étape de pipetage sans interruption.
- **Remarque importante pour la procédure de lavage:**
Le lavage est essentiel. Des puits mal lavés donneront des résultats erronés. La sensibilité et la précision de ce dosage sont fortement influencées par l'exécution correcte de la procédure de lavage!
- **Réalisation de tests avec des dispositifs d'analyse entièrement automatisés:**
Il est possible d'effectuer des tests automatisés au moyen de dispositifs d'analyse entièrement ouverts automatisés. Toutefois, la combinaison doit être validée par l'utilisateur.

6.2 Procédure de test

Chaque cycle doit inclure une courbe standard. Les contrôles servent de contrôles internes pour la fiabilité de la procédure de test. Ils doivent être dosés lors de chaque cycle de tests. La procédure de test décrite correspond à un traitement manuel.

Remarque importante: La précision de ce test est fortement influencée par la température d'incubation et les volumes de pipetage corrects.

1. Fixer le nombre souhaité de puits de microtitration dans le support du cadre.
2. Pipeter **50 µL** de chaque standard (**Standard**), contrôle (**Control**) et **échantillon avec de nouveaux embouts jetables** dans les puits correspondants.
3. Ajouter **50 µL** de **Assay Buffer** dans chaque puits.
Bien mélanger pendant 10 secondes. Il est important d'avoir un mélange complet à cette étape.
4. Incuber pendant **60 minutes** à température ambiante.
5. Ajouter **100 µL** d'**Enzyme Conjugate** dans chaque puits.
Bien mélanger pendant 10 secondes. Il est important d'avoir un mélange complet à cette étape.
6. Incuber pendant **60 minutes** à température ambiante.
7. Laver les puits comme suit:
Si l'étape de lavage est effectuée à la main:
Agiter énergiquement le contenu des puits.
Rincer les puits à **4 reprises** avec **300 µL** de solution de lavage diluée par puits.

Si un laveur de plaques automatique est utilisé:

Rincer les puits à **4 reprises** avec **400 µL** de solution de lavage diluée par puits.

À la fin de l'étape de lavage, toujours frapper énergiquement les puits sur du papier absorbant pour éliminer les gouttelettes résiduelles.

8. Pipeter **100 µL** de solution de substrat (**Substrate Solution**) dans chaque puits.
9. Incuber pendant **30 minutes** à température ambiante.
10. Arrêter la réaction enzymatique en ajoutant **100 µL** de solution d'arrêt (**Stop Solution**) dans chaque puits.
11. Mesurer la densité optique (DO) de la solution dans chaque puits à **450 nm (longueur d'onde de mesure) et à 620 nm ou 630 nm (longueur d'onde de référence pour la soustraction du bruit de fond recommandée)** avec un lecteur de microplaques.
Il est recommandé de lire les puits dans un délai de **10 minutes** après l'ajout de la solution d'arrêt.

6.3 Résultats

1. La concentration des échantillons peut être lue directement à partir de la courbe standard.
2. Pour les déterminations en double, prendre la moyenne des deux valeurs de densité optique (DO) pour chaque standard, contrôle et échantillon. Si les deux valeurs s'écartent considérablement l'une de l'autre, DEMEDITEC recommande de tester à nouveau les échantillons.
3. Les échantillons dont la concentration est supérieure à l'étalon le plus élevé peuvent être dilués davantage avec Zero Standard et dosés à nouveau comme décrit dans la section « Procédure de test » ou doivent être signalés comme > 400 pg/mL. Pour le calcul des concentrations, ce facteur de dilution doit être pris en compte.
4. Méthode automatisée:
Les résultats figurant dans les instructions d'utilisation ont été calculés automatiquement en utilisant un ajustement de la courbe logistique à quatre paramètres (4 PL). (Les méthodes privilégiées sont les modèles logistiques à quatre paramètres [4 PL] de Rodbard ou de Marquardt.) D'autres fonctions de réduction des données peuvent donner des résultats légèrement différents.
5. Méthode manuelle:
Avec du papier graphique semi-logarithmique, construire une courbe standard en traçant la DO (moyenne) obtenue à partir de chaque standard en fonction de sa concentration avec la valeur de la DO sur l'axe vertical (Y) et la concentration sur l'axe horizontal (X). Déterminer la concentration correspondante de l'échantillon à partir de la courbe standard en utilisant la valeur (moyenne) de la DO pour chaque échantillon.

7 CONTRÔLE DE QUALITÉ

Une bonne assurance qualité au laboratoire exige que des contrôles soient effectués avec chaque courbe standard. Un nombre statistiquement significatif de contrôles doit être analysé afin d'établir les valeurs moyennes et les plages acceptables pour garantir une bonne performance. L'utilisation d'échantillons de contrôle est conseillée pour assurer la validité jour par jour des résultats. Les contrôles et les résultats correspondants du laboratoire de contrôle de la qualité sont indiqués dans le certificat d'analyse (CoA) joint au kit. Les valeurs et les plages indiquées sur le « CoA » se rapportent toujours au lot actuel du kit et doivent être utilisées pour une comparaison directe des résultats. Appliquer les méthodes statistiques appropriées pour l'analyse des valeurs de contrôle et des tendances. Si les résultats du dosage ne concordent pas avec les intervalles acceptables établis du matériel de contrôle, les résultats doivent être considérés comme invalides. Dans ce cas, veuillez vérifier les domaines techniques suivants: Dispositifs de pipetage et de chronométrage; photomètre, dates d'expiration des réactifs, conditions de stockage et d'incubation, méthodes d'aspiration et de lavage. Si aucune erreur n'est révélée par l'examen des éléments susmentionnés, veuillez contacter votre distributeur ou DEMEDITEC directement.

8 CARACTERISTIQUES EN MATIERE DE PERFORMANCES

8.1 Spécificité des anticorps (des réactions croisées)

Des informations détaillées sur les substances testées sont disponibles dans la version anglaise du mode d'emploi de la notice d'utilisation.

8.2 Sensibilité

La limite du blanc (LoB)	3,146 pg/mL
La limite de détection (LoD)	5,583 pg/mL
La limite de quantification (LoQ)	7,445 pg/mL
Plage de mesure	5,583 pg/mL – 400 pg/mL
Plage linéaire	13,00 pg/mL – 400 pg/mL

Les données pour:

8.3 Reproductibilité (précision)

8.4 Récupération

8.5 Linéarité

se trouvent dans la version anglaise détaillée du mode d'emploi.

9 LIMITES DE LA PROCÉDURE

Les résultats seront fiables et reproductibles si la procédure de dosage est effectuée dans le respect le plus strict de la notice d'utilisation et des directives relatives à l'assurance qualité en laboratoire. Toute manipulation incorrecte des échantillons ou toute modification de ce test peut affecter les résultats.

9.1 Substances interférentes

L'hémoglobine (jusqu'à 4 mg/mL), la bilirubine (jusqu'à 0,063 mg/mL) et les triglycérides (jusqu'à 7,5 mg/mL) n'ont aucune influence sur les résultats du dosage. Jusqu'à présent, aucune autre substance n'a d'influence connue sur la mesure de l'estradiol dans un échantillon.

9.2 Effet crochet

Aucun effet crochet n'a été observé pour ce test jusqu'à une concentration de 8000 pg/mL de l'estradiol.

10 ASPECTS JURIDIQUES

10.1 Fiabilité des résultats

Le test doit être effectué exactement selon la notice d'utilisation du fabricant. En outre, l'utilisateur doit adhérer aux directives d'assurance qualité en laboratoire et applicables. Ceci s'applique en particulier dans le cadre de l'utilisation des réactifs de contrôle. Il est important de toujours inclure dans la procédure de test un nombre suffisant de contrôles pour valider l'exactitude et la précision du test. Les résultats de tests ne sont valides que si tous les contrôles se situent dans l'intervalle spécifié et que tous les autres paramètres de test correspondent également aux spécifications du dosage. En cas de doute ou de préoccupation relative à un résultat, veuillez contacter DEMEDITEC.














10.2 Responsabilité

Toute modification du kit de test et/ou échange ou mélange de composants de différents lots de kits pourrait avoir un impact négatif sur les résultats escomptés et sur la validité du test global. De telles modifications et/ou de tels échanges invalident toute demande de remplacement. Quoi qu'il en soit, en cas de réclamation, la responsabilité du fabricant ne doit pas excéder la valeur du kit de test. Tout dommage causé au kit de test lors du transport ne relève pas de la responsabilité du fabricant.

11 LITERATURE

1. Tsang BK et al. (1980) Steroid biosynthesis by isolated human ovarian follicular cells in vitro. *J Clin Endocrinol Metab.* 1980, 51, 1407 – 11.
2. Gore-Langton RE et al. Follicular steroidogenesis and its control. In: *The physiology of Reproduction.* 1988, Ed.: Knobil et al., 331-385, Raven press, New York.
3. Hall, PF. Steroid synthesis: Organization and Regulation. In: *The Physiology of Reproduction.* 1988, Ed.: Knobil et al., 975 – 988, Raven press, New York
4. Saldanha CJ, Remage-Healey L, and Schlinger BA. "Synaptocrine signaling: steroid synthesis and action at the synapse." *Endocrine Reviews.* 2011, 32(4) 532–549.
5. Wu CH et al. Free and protein-bound plasma estradiol-17 beta during the menstrual cycle". *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 1976, 43 (2), 436–45.
6. Siiteri PK et al. The serum transport of steroid hormones. *Rec Progr Horm Res.* 1982, 38, 457 – 510
7. Hammond GL. Plasma steroid-binding proteins: primary gatekeepers of steroid hormone action. *J Endocrinol.* 2016, 230(1):R13-25.
8. Celec P et al. Salivary Sex Hormones during the Menstrual Cycle. *Endocrine Journal.* 2009, 56 (3), 521-523
9. Hammes SR and Levin ER. Impact of estrogens in males and androgens in females. *Clin Invest.* 2019, 129(5):1818–1826.
10. Baird DT Ovarian steroid secretion and metabolism in women. In: *The Endocrine function of the human ovary.* Eds.: James V.H.T., Serio M. and Guisti G., 1976, 125 – 33, Academic press, New York
11. Mc Ntty KP et al. Concentration of estrogens and androgens in human ovarian venous plasma and follicular fluid throughout the menstrual cycle. *J. Endocrinol.* 1976, 71, 77–85.
12. Gruhn JG, Kazer RR. *Hormonal Regulation of the Menstrual Cycle: The Evolution of Concepts.* Springer Science & Business Media. 2013, 69–73. ISBN 978-1-4899-3496-3.
13. March CM et al. Roles of estradiol and progesterone in eliciting mid-cycle luteinizing hormone and follicle stimulating hormone surges. *J Clin Endocrinol Metab.* 1979, 49, 507 – 12.
14. Stricker R et al. Establishment of detailed reference values for luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, estradiol, and progesterone during different phases of the menstrual cycle on the Abbott ARCHITECT analyzer". *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* 2006, 44 (7), 883–7.
15. Simpson ER and McDonald PC. Endocrinology of pregnancy. In: *Textbook of Endocrinology,* Ed.: Williams R.H. 1981, 412 – 22, Saunders Company, Philadelphia.
16. Brann DW et al. Brain-derived estrogen and neural function. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews.* 2022, 132 793–817.

SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS

Symbol	English	Deutsch	Française	Espanol	Italiano
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las Instrucciones	Consultare le istruzioni per l'uso
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	utilisation Diagnostic in vitro	Diagnóstico in vitro	Per uso Diagnostica in vitro
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Seulement dans le cadre de recherches	Sólo para uso en investigación	Solo a scopo di ricerca
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Référence	Número de catálogo	No. di catalogo
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	No. de lot	Número de lote	Lotto no
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Note warnings and precautions	Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen beachten	Avertissements et mesures de précaution font attention	Tiene en cuenta y advertencias y precauciones	Annoti avvisi e le precauzioni
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Température de conservation	Temperatura de conservación	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeitsdatum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
<i>Distributed by</i>	Distributed by	Vertrieb durch	Distribution par	Distribución por	Distribuzione da parte di
	Version	Version	Version	Versión	Versione
	Single-use	Einmalverwendung	À usage unique	Uso único	Uso una volta