

Product information

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



Treponema pallidum (Syphilis) IgM ELISA



DE4267



96



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

**Please use only the valid version of the package insert provided with the kit.
Verwenden Sie nur die jeweils gültige, im Testkit enthaltene, Arbeitsanleitung.**

Table of Contents / Inhaltsverzeichnis

1	INTENDED USE	4
2	PRINCIPLE OF THE TEST	4
3	WARNINGS AND PRECAUTIONS	5
4	MATERIALS.....	6
5	SAMPLE COLLECTION, STORAGE AND PREPARATION	8
6	ASSAY PROCEDURE	8
7	RESULTS	10
8	QUALITY CONTROL	11
9	PERFORMANCE CHARACTERISTICS.....	11
10	LIMITATIONS OF THE PROCEDURE	13
11	LEGAL ASPECTS.....	13
1	ZWECKBESTIMMUNG	14
2	TESTPRINZIP.....	14
3	WARNUNGEN UND VORSICHTSMAßNAHMEN.....	15
4	MATERIALIEN	17
5	ENTNAHME, LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER PROBEN.....	18
6	TESTDURCHFÜHRUNG.....	19
7	ERGEBNISSE.....	21
8	QUALITÄTSKONTROLLE	22
9	LEISTUNGSMERKMALE	22
10	GRENZEN DES VERFAHRENS	23
11	RECHTLICHE GRUNDLAGEN	23
12	REFERENCES / LITERATURE.....	24
	SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS	24

**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.**

Introduced modifications / Durchgeführte Änderungen	
The following changes have been made in comparison to the previous version: Im Vergleich zur Vorgängerversion wurden folgende Änderungen vorgenommen:	
Detailed editorial revision. Changed wording in several chapters. Ausführliche redaktionelle Überarbeitung. Geänderter Wortlaut in mehreren Kapiteln.	
1 INTENDED USE:	More definitions for intended use and use not intended.
4.4 Reagent Preparation:	Stability of wash solution changed to 1 week at 20 °C to 25 °C (before: 4 weeks at 2 °C to 8 °C)
9.1 Specificity of Antigen:	More detailed information
9.2 Sensitivity:	Updated and additional data
9.3 Method Comparison:	Addition of "Positive and Negative Percent Agreement", previous chapters for Diagnostic Specificity and Sensitivity removed.
9.4.3 Between-Lot Precision:	added
11.4 Reporting of Serious Incident:	added
12 LITERATURE:	updated

1 INTENDED USE

The **DEMEDIATEC Treponema pallidum IgM ELISA** is a manual enzyme immunoassay for the **semi-quantitative** and **qualitative** measurement of IgM-class antibodies to Treponema pallidum in human serum or plasma (EDTA, Li-heparin or citrate plasma).

For *in vitro* diagnostic use. For laboratory professional use.

The device is **intended to be used** for

- checking the immune status for Treponema pallidum.
- discrimination between acute or past syphilis infection
- maternity screening
- the distinction between acute and past infection by Treponema pallidum (in combination with an IgG assay)

The device is **not intended** to be used for testing whether blood samples can be used in transfusion or transplantation medicine.

1.1 Scientific Validity

Spirochetes are motile bacteria with a periplasmic axial filament. All pathogenic species belong to the family Treponemataceae, which includes the three genera: Treponema, Borrelia, and Leptospira. The Treponema are motile bacteria, 5-15 µm in length and 0.2 µm in width, containing about 10 flexible, undulating, spiral shaped rods. Treponema pallidum, the causative agent of Syphilis, is transmitted by direct contact, usually through sexual intercourse. Syphilis along with Gonorrhoea, Chancroid and Lymphogranuloma venereum, designated as a venereal disease, or VD, is an acute and chronic infectious disease. After an incubation period of 12-30 days, the first symptoms to appear are chancres, soon followed by syphilitic ulcers which then spontaneously disappear in a few weeks. During this first stage (primary syphilis) the Treponema pallidum propagates in related lymph nodes to be distributed to the whole-body stream. Three further stages of disease follow which are classified as secondary, tertiary, and quaternary syphilis. Treatment with antibiotics at the earliest disease stage and prophylactic measures are ways to prevent epidemics. For this purpose, antenatal and donor blood screenings are mandatory in most of countries around the world.

2 PRINCIPLE OF THE TEST

The DEMEDIATEC Treponema pallidum IgM ELISA is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Samples are diluted with *Sample Diluent* and additionally incubated with *IgG-RF-Sorbent* to remove rheumatoid factor and potentially interfering IgG. Microtiter wells as a solid phase are coated with Treponema pallidum antigen. Pre-treated samples and ready-to-use controls are pipetted into these wells. During incubation Treponema pallidum specific antibodies of controls and positive samples are bound to the immobilized antigens. After a washing step to remove all unbound material enzyme conjugate (horseradish peroxidase conjugated anti-human IgM antibodies) is added to the wells. During the second incubation the conjugate binds to the captured analyte specific antibodies resulting in the formation of enzyme-linked immune complexes. After a second washing step to remove unbound conjugate, 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 this color is directly proportional to the amount of specific antibodies in the sample. Optical density at 450 nm/620 nm is read using an ELISA microtiter plate reader.

3 WARNINGS AND PRECAUTIONS

- This kit is for *in vitro* diagnostic use only. 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 25 °C) before starting the test. Temperature will affect the optical density readings of the assay. However, values for the patient samples will not be affected.
- 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 colored. 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 < 2 % 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. For detailed information, please refer to the Safety Data Sheet, which is available upon request directly from DEMEDITEC.

4 MATERIALS

4.1 Materials Provided with the Kit

1. **SORB MT** Microtiterwells, 12 x 8 wells (break apart), ready to use; Wells coated with Treponema pallidum antigen.
 2. **SAM DIL** Sample Diluent * 1 x 100 mL, ready to use; colored yellow; pH 7.2 ± 0.2.
 3. **IgG-RF SORB** IgG-RF-Sorbent *, 1 x 6.5 mL, ready to use; colored yellow; Contains anti-human IgG-class antibody.
 4. **CAL C** Pos. Control *, 1 x 2.0 mL, ready to use; colored yellow, red cap.
 5. **CAL A** Neg. Control *, 1 x 2.0 mL, ready to use; colored yellow, yellow cap.
 6. **CAL B** Cut-off Control *, 1 x 2.0 mL, ready to use; colored yellow, black cap.
 7. **ENZ CONJ** Enzyme Conjugate *, 1 x 20 mL, ready to use; colored red, antibody to human IgM conjugated to horseradish peroxidase.
 8. **SUB TMB** Substrate Solution, 1 x 14 mL, ready to use, Contains 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB). *Keep away from direct sun light.*
 9. **STOP SOLN** Stop Solution, 1 x 14 mL, ready to use, contains < 2 % H₂SO₄. *Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.*
 10. **WASH SOLN 20x** Wash Solution *, 1 x 30 mL; 20X concentrate; see „Reagent Preparation“.
 11. **1 x Cover foil, 1 x Instructions for Use, 1 x Certificate of Analysis (CoA)**
- * Contain(s) 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
- Incubator for 37 °C
- Manual or automatic equipment for rinsing microtiter plate wells
- Vortex tube mixer
- Absorbent paper
- Freshly distilled water
- Timer

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 (RT, 20 °C to 25 °C) prior to use.

Wash Solution

Add fresh and germ-free distilled water to the 20X concentrated Wash Solution.

Dilute the complete content of the vial **1 + 19** (30 mL *Wash Solution* + 570 mL distilled water) to a final volume of 600 mL.

If crystals have formed in the wash solution concentrate, ensure that they are completely transferred and dissolved into the solution.

This diluted wash solution must have a pH value of 7.2 ± 0.2 .

Stability after dilution:	at 20 °C to 25 °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. Patients receiving anticoagulant therapy 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	3 days
	at -20 °C (in aliquots)	up to 18 months

5.3 Sample Preparation

Before starting the test, samples must first be diluted with *Sample Diluent*. Afterwards, these prediluted samples are incubated with *IgG RF Sorbent* to eliminate rheumatoid factors.

1. Dilute each sample **1 + 50** with *Sample Diluent*;
e.g. 10 µL sample + 500 µL *Sample Diluent*. **Mix well.**
2. Mix well the *IgG-RF-Sorbent* before use!
3. Dilute the prediluted sample **1 + 1** with *IgG-RF-Sorbent*
e.g. 60 µL prediluted sample + 60 µL *IgG-RF-Sorbent*. **Mix well**
4. **Let stand at room temperature for at least 15 minutes, up to a maximum of 2 hours and mix well again.**

Take **100 µL** of the pretreated sample for the ELISA. Use only fresh pretreated samples!

Please note: Controls are ready to use and must not be diluted!

6 ASSAY PROCEDURE

6.1 Procedural Notes

- All reagents and samples must be allowed to come to room temperature (20 °C to 25 °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 patient 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.
- During the incubation at 37 °C cover microtiter strips with foil to avoid evaporation.
- **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

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.

Before starting the assay, dilute *Wash Solution*, **prepare samples as described in section 5.3** and mix well before pipetting. For all controls and samples carefully document the distribution on the plate on the Plate Layout Sheet supplied in the kit.

1. Secure the desired number of microtiter wells in the frame holder.

Please allocate at least:

1 well	(e.g. A1)	for the <i>Neg. Control</i> ,	
2 wells	(e.g. B1 + C1)	for the <i>Cut-off Control</i>	and
1 well	(e.g. D1)	for the <i>Pos. Control</i> .	

It is left to the user to determine controls and samples in duplicate.

2. Pipette

100 µL of <i>Neg. Control</i>	into well	A1	
100 µL of <i>Cut-off Control</i>	into wells	B1 + C1	
100 µL of <i>Pos. Control</i>	into well	D1	and
100 µL of each pre-treated sample	with new disposable tips	into appropriate wells.	

3. Cover wells with the foil supplied in the kit. Incubate for **60 minutes at 37 °C**.

4. Wash the wells as follows:

If the wash step is performed manually:

Briskly shake out the contents of the wells.

Rinse the wells **5 times** with **300 µL** diluted *Wash Solution* per well.

If an automated plate washer is used:

Rinse the wells **5 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!

5. Pipette **100 µL Enzyme Conjugate** into each well.
6. Incubate for **30 minutes at room temperature (20 °C to 25 °C)**.
7. Wash as described in step 4.
8. Pipette **100 µL** of **Substrate Solution** into each well.
9. Incubate for exactly **15 minutes at room temperature (20 °C to 25 °C) in the dark**.
10. Stop the enzymatic reaction by adding **100 µL** of **Stop Solution** to each well.
Any blue color developed during the incubation turns into yellow.
Note: Highly positive samples can cause dark precipitates of the chromogen!
11. Measure the optical density (OD) of the solution in each well at **450 nm (reading) and at 620 nm to 630 nm (background subtraction, recommended)** with a microtiter plate reader.
It is recommended that the wells be read **within 30 minutes** after adding the *Stop Solution*.

Note: Record the OD values for each control, and sample in the Plate Layout Sheet.

7 RESULTS

The results alone should not be the only reason for any therapeutic consequences. The results must be correlated to other clinical observations and diagnostic tests.

7.1 Validation of the Test Run

The test run may be considered valid provided the following criteria are met:

Neg. Control in A1: OD value **lower than 0.200**
Cut-off Control in B1 + C1: OD value **between 0.350 – 0.850**
Pos. Control in D1: OD value **between 0.650 – 3.000**

(OD Pos. Control > OD Cut-off Control).

If these criteria are not met, the test is not valid and must be repeated.

7.2 Calculation

Where applicable **calculate the mean OD values** of all duplicates.

7.2.1 Calculation of Cut-off [CO]

Calculate the mean OD value of the duplicate determination of the Cut-off Control (e.g. in B1/C1).

Example: $\frac{0.440 + 0.460}{2} = 0.450 = \text{CO}$

7.2.2 Calculation of Semiquantitative Results in DEMEDITEC Units [DU]

$$\frac{\text{Mean OD}_{\text{sample}} \times 10 \text{ DU}}{\text{CO}} = \text{DEMEDITEC Units [DU]}$$

Example: $\frac{1.580 \times 10 \text{ DU}}{0.450} = 35 \text{ DU}$

7.3 Interpretation

7.3.1 Interpretation of Semiquantitative Results

Cut-off value: 10 DU

NEGATIVE:	< 9	DU
GREY ZONE:	9 – 11	DU
POSITIVE:	> 11	DU

7.3.2 Calculation of Qualitative Results

NEGATIVE Patient sample (mean) OD value more than 10 % below CO
 (Mean OD_{sample} < 0.9 × CO)

GREY ZONE Patient sample (mean) OD value from 10 % above to 10 % below CO
 repeat test 2 - 4 weeks later - with new patient sample
 (0.9 × CO ≤ Mean OD_{sample} ≤ 1.1 × CO)
 Results in the second test again in the grey zone ⇒ **NEGATIVE**

POSITIVE Patient sample (mean) OD value more than 10 % above CO
 (Mean OD_{sample} > 1.1 × CO)

8 QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day-to-day validity of results. Use controls at both normal and pathological levels.

The controls and the corresponding results of the 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.

If available, it is also recommended to make use of national or international Quality Assessment programs in order to ensure the accuracy 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, patient results should be considered invalid.

In this case, please check the following technical areas: Pipetting and timing devices; photometer, expiration dates of reagents, storage and incubation conditions, aspiration and washing methods.

After checking the above-mentioned items without finding any error contact your distributor or DEMEDITEC directly.

9 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

9.1 Specificity of Antigen

The antigen used for the DEMEDITEC Treponema pallidum IgM ELISA shows no cross-reactivity to measured samples with following interfering antigens:

Sample positive to	n	Cross-reaction
Epstein Barr Virus (VCA) IgM	16	no
Borrelia burgdorferi IgM	24	no
Mycoplasma pneumonia IgM	14	no
Toxoplasma pallidum IgM	9	no
Fasciola hepatica	9	no
Echinococcus	7	no
Strongyloides stercoralis	5	no

Sample positive to	n	Cross-reaction
Ascaris	6	no
Entamoeba histolytica	7	no
Schistosoma	5	no
Trichinella	6	no
Toxocara canis	7	no
Giardia lamblia	15	no

9.2 Sensitivity

Analytical sensitivity [Conc. corresponding to mean OD (<i>Neg. Control</i>) + 2 × SD]	0.491 DU
Limit of Blank (LoB)	0.433 DU
Measuring range	0.433 DU – 60 DU
Linear range	2.06 DU – 60 DU.

9.3 Method Comparison

DEMEDIATEC ELISA	Other commercial available CE-marked ELISA	
	pos.	neg.
	pos.	20
neg.	0	57

Positive percent agreement (PPA)	100 %
Negative percent agreement (NPA)	100 %

9.4 Sensitivity

9.4.1 Within-Run Precision

The within-run precision of the DEMEDITEC ELISA was determined by 20 measurements of each sample covering the measuring range of the ELISA.

Sample	n	Mean OD	CV (%)
1	20	0.374	8.3
2	20	0.243	9.6
3	20	0.509	8.6
4	20	0.941	6.3
5	20	0.937	7.1
6	20	0.665	6.5
7	20	1.301	3.7
8	20	1.351	3.4
9	20	1.436	3.4
10	20	1.958	2.5
11	20	2.076	2.8
12	20	1.622	4.8

9.4.2 Between-Run Precision

The between-run precision of the DEMEDITEC ELISA was determined in 20 independent runs with 2 replicates per run.

Sample	n	Mean OD	CV (%)
1	40	1.856	2.7
2	40	1.201	3.3
3	40	1.443	2.7

9.4.3 Between-Lot Precision

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

Sample	n	Mean DU	CV (%)
1	18	1.89	12.0
2	18	6.03	5.3
3	18	18.34	7.7
4	18	48.80	4.0

9.5 Linearity

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

		Sample 1	Sample 2	Sample 3
Concentration (DU)		42.7	34.2	44.6
Average Recovery (%)		97.8	104.9	92.1
Range of Recovery (%)	from	86.6	95.1	86.0
	to	112.4	114.2	97.5

10 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 with adherence to good laboratory practice.

Any improper handling of samples or modification of this test might influence the results.

Bacterial contamination or repeated freeze-thaw cycles of the samples may affect the optical density values.

In immunocompromised patients and newborns serological data only have restricted value.

10.1 Interfering Substances

Hemoglobin (up to 4.0 mg/mL), bilirubin (up to 0.5 mg/mL) and triglyceride (up to 30 mg/mL) have no influence on the assay results.

None of the following samples with interference factors will interfere with the ELISA: samples with rheumatoid factor, samples with pregnancy hormones, samples with tumor marker (CYFRA, CA-72-4, CA-21-1, CA-15-3), samples with HAMA, samples with ANA, and samples from elderly people with high amount of proteins.

11 LEGAL ASPECTS

11.1 Reliability of Results

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover, the user must strictly adhere to the laboratory quality assurance guidelines and applicable national standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications. If there is any doubt or concern regarding a result, please contact DEMEDITEC.

11.2 Therapeutic Consequences

Therapeutic consequences should never be based on laboratory results alone even if all test results are in agreement with the items as stated under point 11.1. Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of a patient.

Only in cases where the laboratory results are in acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient should therapeutic consequences be derived.

The test result itself should never be the sole determinant for deriving any therapeutic consequences.

11.3 Liability

Any modification of the test kit and/or exchange or mixture of any components of different lots from one test kit to another could negatively affect the intended results and validity of the overall test. Such modification and/or exchanges invalidate any claim for replacement.

Claims submitted due to customer misinterpretation of laboratory results subject to point 11.2 are also invalid. Regardless, in the event of any claim, the manufacturer's liability is not to exceed the value of the test kit. Any damage caused to the test kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer.

11.4 Reporting of Serious Incident

Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and/or the patient is established.

1 ZWECKBESTIMMUNG

Der **DEMEDIATEC Treponema pallidum IgM ELISA** ein manueller Enzymimmunoassay zur **semiquantitativen und qualitativen** Messung von IgM-Antikörpern gegen Treponema pallidum in humanem Serum oder Plasma (EDTA-, Lithium-Heparin- oder Zitratplasma). **Für den Einsatz in der *In-vitro* Diagnostik. Für den beruflichen Gebrauch in Laboratorien.**

Weitere Informationen zur bestimmungsgemäßen Verwendung finden Sie in der englischen Version der Gebrauchsanweisung.

2 TESTPRINZIP

Der DEMEDIATEC Treponema pallidum IgM ELISA ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay (ELISA). Die Proben werden mit Probenverdünnungsmittel (*Sample Diluent*) verdünnt und zusätzlich mit *IgG-RF-Sorbent* inkubiert, um Rheumafaktor und potenziell störendes IgG zu entfernen. Mikrotitervertiefungen als Festphase sind mit Treponema pallidum antigen beschichtet. Vorbehandelte Proben und gebrauchsfertige Kontrollen werden in diese Vertiefungen pipettiert. Während der Inkubation werden Treponema pallidum-spezifische Antikörper der Kontrollen und positiven Proben an die immobilisierten Antigene gebunden. Nach einem Waschschrift zur Entfernung des gesamten ungebundenen Materials wird das Enzymkonjugat (mit Meerrettichperoxidase konjugierte Anti-Human-IgA/M-Antikörper) in die Vertiefungen gegeben. Während der zweiten Inkubation bindet das Konjugat an die eingefangenen Analyt-spezifischen Antikörper, was zur Bildung von gebundenen Enzym-Immunkomplexen führt. Nach einem zweiten Waschschrift, um alle ungebundenen Substanzen zu entfernen, wird die feste Phase mit der Substratlösung inkubiert. Die kolorimetrische Reaktion wird durch Zugabe von Stopplösung gestoppt, und die optische Dichte (OD) des entstehenden gelben Produkts wird gemessen. Die Intensität dieser Farbe ist direkt proportional zur Menge der spezifischen Antikörper in der Probe. Die optische Dichte bei 450 nm wird mit einem ELISA-Mikrotiterplatten-Lesegerät gemessen.

3 WARNUNGEN UND VORSICHTSMAßNAHMEN

- Dieser Kit ist nur für den Einsatz in der In-vitro Diagnostik 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 DEMEDITEC.
- Eine mikrobielle Kontamination von Reagenzien oder Proben kann zu falschen Ergebnissen führen.
- Lassen Sie die Reagenzien vor Testbeginn Raumtemperatur (20 °C bis 25 °C) erreichen. Die Temperatur wirkt sich auf die Messungen der optischen Dichte des Assays aus. Die Werte für die Patientenproben werden jedoch nicht beeinflusst.
- 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 < 2 % 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

- SORB MT Microtiterwells** (Mikrotiterplatte), 12x8 Wells (einzeln brechbar), gebrauchsfertig; Vertiefungen beschichtet mit Treponema pallidum antigen.
- SAM DIL Sample Diluent *** (Probenverdünnungsmedium), 1 Fläschchen, 100 mL, gebrauchsfertig; gelb gefärbt; pH 7,2 ± 0,2.
- IgG-RF SORB IgG-RF-Sorbent ***, 1 x 6.5 mL, gebrauchsfertig, gelb gefärbt; Enthält anti-human IgG-Antikörper.
- CAL C Pos. Control *** (Positive Kontrolle), 1 x 2,0 mL, gebrauchsfertig; gelb gefärbt, rote Kappe.
- CAL A Neg. Control *** (Negative Kontrolle), 1 x 2,0 mL, gebrauchsfertig; gelb gefärbt, gelbe Kappe.
- CAL B Cut-off Control *** (Grenzwert-Kontrolle), 1 x 2,0 mL, gebrauchsfertig; gelb gefärbt, schwarze Kappe.
- ENZ CONJ Enzyme Conjugate *** (Enzymkonjugat), 1 Fläschchen, 20 mL, gebrauchsfertig; rot gefärbt, Antikörper gegen humanes IgM, konjugiert mit Meerrettichperoxidase.
- SUB TMB Substrate Solution** (Substratlösung), 1 Fläschchen, 14 mL, gebrauchsfertig; Enthält 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB). *Von direktem Sonnenlicht fernhalten.*
- STOP SOLN Stop Solution** (Stopplösung), 1 Fläschchen, 14 mL, gebrauchsfertig; enthält < 2 % H₂SO₄; *Kontakt mit der Stopplösung vermeiden! Kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.*
- WASH SOLN 20x Wash Solution*** (Waschlösung, 20X-Konzentrat), 1 x 30 mL; Siehe „Vorbereitung der Reagenzien“.
- 1 x Abdeckfolie, 1 x Gebrauchsanweisung, 1 x Certificate of Analysis (CoA)** (Analysezertifikat)

* 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
- Inkubator für 37 °C
- Manuelle oder automatische Waschvorrichtung für Mikrotiterplatten
- Vortex-Mischer für Röhrchen
- Saugfähiges Papier
- Frisches destilliertes Wasser
- Laborwecker

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 verschlossen 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 25 °C) bringen.

Wash Solution

Fügen Sie der 20-fach konzentrierten Waschlösung frisches und keimfreies destilliertes Wasser hinzu. Den gesamten Inhalt des Fläschchens **1 + 19** (30 mL *Wash Solution* + 570 mL destilliertes Wasser) auf ein Endvolumen von 600 mL verdünnen.

Falls sich in dem Waschlösungskonzentrat Kristalle gebildet haben, stellen Sie sicher, dass diese vollständig in die Lösung überführt und aufgelöst werden. Diese verdünnte Waschlösung muss einen pH-Wert von $7,2 \pm 0,2$ haben.

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 Zitratplasma)

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 Patienten, 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	3 Tage
	bei -20 °C (in Aliquoten)	bis zu 18 Monate

5.3 Probenvorbereitung

Vor Testbeginn müssen die Proben zuerst mit *Sample Diluent* verdünnt werden. Diese vorverdünnten Proben werden anschließend mit *IgG RF-Sorbent* inkubiert, um Rheumafaktoren zu eliminieren.

1. Jede Probe **1 + 50** mit *Sample Diluent* verdünnen;
z.B. 10 µL Probe + 500 µL *Sample Diluent*. **Gut mischen.**
2. Vor Gebrauch das *IgG-RF-Sorbent* gut mischen.
3. Die vorverdünnte Probe **1 + 1** mit *IgG-RF-Sorbent* verdünnen
z.B. 60 µL vorverdünnte Probe + 60 µL *IgG-RF-Sorbent*. **Gut mischen.**
4. **Mindestens 15 Minuten, bis maximal 2 Stunden bei Raumtemperatur stehen lassen und danach nochmals gut mischen.**

Nehmen Sie **100 µL** der vorbehandelten Probe für den ELISA. Verwenden Sie nur frische vorbehandelte Proben!

Achtung: Kontrollen sind gebrauchsfertig und dürfen nicht verdünnt werden!

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.
- Während der Inkubation bei 37 °C die Mikrotiterstreifen mit Folie abdecken, um Verdunstung zu vermeiden.
- **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 Waschschriffs!
- **Testdurchführung mit vollautomatischen Analysegeräten:**
Eine automatisierte Testdurchführung mit vollautomatischen, systemoffenen Analysegeräten ist möglich. Die Kombination muss jedoch vom Anwender validiert werden.

6.2 Testdurchführung

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

Das angegebene Testverfahren beschreibt die manuelle Abarbeitung.

Vor Beginn der Testdurchführung die Waschlösung verdünnen, **die Proben wie in Abschnitt 5.3 beschrieben vorbereiten** und vor dem Pipettieren gut mischen. Dokumentieren Sie für alle Kontrollen und Proben sorgfältig die Verteilung auf der Platte auf dem im Kit enthaltenen Plattenlayoutblatt.

1. Die benötigte Anzahl der Mikrotiter-Wells in der Halterung befestigen.

Mindestens

1 Vertiefung	(z.B. A1)	für <i>Neg. Control</i> ,	
2 Vertiefungen	(z.B. B1 + C1)	für <i>Cut-off Control</i>	und
1 Vertiefung	(z.B. D1)	für <i>Pos. Control</i> .	

Es bleibt dem Anwender überlassen, Kontrollen und Proben in Doppelbestimmung durchzuführen.

2. Pipettieren Sie

100 µL *Neg. Control* in Vertiefung A1

100 µL *Cut-off Control* in die Vertiefungen B1 + C1

100 µL *Pos. Control* in Vertiefung D1 und

100 µL jeder v o r b e h a n d e l t e n Probe mit neuen Plastikspitzen in die entsprechenden Wells.

3. Vertiefungen mit der im Kit enthaltenen Folie abdecken. Für **60 Minuten bei 37 °C** inkubieren.

4. Die Vertiefungen folgendermaßen waschen:

Wenn der Waschschrift manuell durchgeführt wird:

Den Inhalt der Wells kräftig ausschütteln.

Wells **5-mal** mit **300 µL** verdünnter *Wash Solution* pro Well waschen.

Bei Verwendung eines Waschautomaten:

Wells **5-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.

5. **100 µL *Enzyme Conjugate*** in jedes Well zugeben.
6. **30 Minuten bei Raumtemperatur (20 °C bis 25 °C)** inkubieren.
7. Waschen, wie in Schritt 4 beschrieben.
8. **100 µL *Substrate Solution*** in jedes Well pipettieren.
9. Exakt **15 Minuten bei Raumtemperatur (20 °C bis 25 °C) im Dunkeln** inkubieren.
10. Die enzymatische Reaktion durch Zugabe von **100 µL *Stop Solution*** in jedes Well abstoppen. Jede blaue Farbe, die sich während der Inkubation entwickelt hat, schlägt in Gelb um.
Hinweis: Stark positive Proben können dunkle Präzipitate des Chromogens verursachen!
11. Die Optische Dichte (OD) der Lösung in jedem Well bei **450 nm (Messung) und 620 nm bis 630 nm (Abzug des Hintergrundes, empfohlen)** mit einem Mikrotiterplattenleser bestimmen. Es wird empfohlen, die Vertiefungen **innerhalb von 30 Minuten** nach Zugabe der Stopplösung abzulesen.

Hinweis:

Die OD-Werte für jede Kontrolle und Probe in den Übersichtsplan eintragen

7 ERGEBNISSE

Die mit diesem Testkit erzielten Ergebnisse sollten niemals als alleinige Grundlage für therapeutische Konsequenzen dienen. Die Ergebnisse müssen zusammen mit anderen klinischen Befunden und diagnostischen Tests des Patienten interpretiert werden.

7.1 Validierung des Testlaufs

Der Testlauf kann als gültig angesehen werden, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind:

Neg. Control in A1:	OD-Wert kleiner als 0,200
Cut-off Control in B1 + C1:	OD-Wert zwischen 0,350 – 0,850
Pos. Control in D1:	OD-Wert zwischen 0,650 – 3,000

(OD Pos. Control > OD Cut-off Control).

Wenn diese Kriterien nicht erfüllt sind, ist der Test ungültig und muss wiederholt werden.

7.2 Berechnung

Gegebenenfalls die **OD-Mittelwerte** aller Doppelbestimmungen **berechnen**.

7.2.1 Berechnung des Cut-off [CO]

Berechnen Sie den OD-Mittelwert der Doppelbestimmung der Cut-off-Kontrolle (z. B. in B1/C1)

Beispiel: $\frac{0,440 + 0,460}{2} = 0,450 = \text{CO}$

7.2.2 Berechnung semiquantitativer Ergebnisse in DEMEDITEC Units [DU]

$$\frac{\text{OD-Mittelwert}_{\text{Probe}} \times 10 \text{ DU}}{\text{CO}} = \text{DEMEDITEC-Einheiten [DU]}$$

Beispiel: $\frac{1,580 \times 10 \text{ DU}}{0,450} = 35 \text{ DU}$

7.3 Interpretation

7.3.1 Interpretation semiquantitativer Ergebnisse

Cut-off-Wert: 10 DU	NEGATIV:	< 9 DU
	GRAUZONE:	9 – 11DU
	POSITIV:	> 11 DU

7.3.2 Interpretation qualitativer Ergebnisse

NEGATIV	OD-(Mittel)wert der Probe mehr als 10 % unterhalb des CO (OD-Mittelwert _{Probe} < 0,9 × CO)
GRAUZONE	OD-(Mittel)wert der Probe von 10 % oberhalb bis zu 10 % unterhalb des CO. Test 2 - 4 Wochen später wiederholen - mit <u>frischer</u> Patientenprobe (0,9 × CO ≤ OD-Mittelwert _{Probe} ≤ 1,1 × CO) Ergebnisse im zweiten Test wieder in der Grauzone ⇒ NEGATIV
POSITIV	OD-(Mittel)wert der Probe mehr als 10 % oberhalb des CO (OD-Mittelwert _{Probe} > 1,1 × CO)

8 QUALITÄTSKONTROLLE

Es wird empfohlen, die Kontrollproben gemäß den nationalen gesetzlichen Bestimmungen einzusetzen. Durch die Verwendung von Kontrollproben wird eine Tag-zu-Tag-Überprüfung der Ergebnisse erzielt. Es sollten Kontrollen sowohl mit normalem als auch pathologischem Level eingesetzt werden. 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. Falls verfügbar, wird ebenfalls empfohlen, an nationalen oder internationalen Qualitätssicherungsprogrammen teilzunehmen, um die Genauigkeit der Ergebnisse zu sichern. 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 Patientenergebnisse 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.

9 LEISTUNGSMERKMALE

9.1 Spezifität des Antigens

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

9.2 Sensitivität

Analytische Sensitivität [Konz. entsprechend des OD-Mittelwerts (<i>Neg. Control</i>) + 2 × SD]	0,491 DU
Limit of Blank (LoB)	0,433 DU
Messbereich	0,433 DU – 60 DU
Linearer Bereich	2,06 DU – 60 DU.

9.3 Methodenvergleich

		Anderer kommerzieller CE-gekennzeichneter ELISA	
		pos.	neg.
DEMEDITEC ELISA	pos.	20	0
	neg.	0	57
Positive prozentuale Übereinstimmung (PPA)		100 %	
Negative prozentuale Übereinstimmung (NPA)		100 %	

Die Daten zu:

9.4 Reproduzierbarkeit

9.5 Linearität

entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Version der Gebrauchsanweisung.

10 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. Eine bakterielle Kontamination oder wiederholte Einfrier-Auftau-Zyklen der Proben können die Werte der optischen Dichte beeinflussen. Bei immungeschwächten Patienten und Neugeborenen haben serologische Daten nur begrenzten Wert.

10.1 Störsubstanzen

Hämoglobin (bis zu 4.0 mg/mL), Bilirubin (bis zu 0.5 mg/mL) und Triglyceride (bis zu 30 mg/mL) haben keinen Einfluss auf das Testergebnis. Keine der folgenden Proben mit möglichen Interferenzen stören den ELISA: Proben mit Rheumafaktoren, Proben die Schwangerschaftshormone enthalten, Proben die Tumormarker (CYFRA, CA-72-4, CA 21-1, CA-15-3) enthalten, Proben mit HAMA oder ANA und Proben von älteren Menschen mit hoher Proteinkonzentration.

11 RECHTLICHE GRUNDLAGEN

11.1 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 und anwendbare nationale Normen und/oder Gesetze strikt 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.

11.2 Therapeutische Konsequenzen

Therapeutische Konsequenzen sollten keinesfalls nur aufgrund von Laborergebnissen erfolgen, selbst dann nicht, wenn alle Testergebnisse mit den in 11.1 genannten Voraussetzungen übereinstimmen. Jedes Laborergebnis ist nur ein Teil des klinischen Gesamtbildes eines Patienten. Nur in Fällen, in denen die Laborergebnisse in akzeptabler Übereinstimmung mit dem allgemeinen klinischen Bild des Patienten stehen, sollten therapeutische Konsequenzen eingeleitet werden. Das Testergebnis allein sollte niemals als alleinige Grundlage für die Einleitung therapeutischer Konsequenzen dienen.

11.3 Haftung

Jegliche Veränderungen des Testkits und/oder Austausch oder Vermischung von Komponenten unterschiedlicher Chargen von einem Testkit zu einem anderen, können die gewünschten Ergebnisse und die Gültigkeit des gesamten Tests negativ beeinflussen. Solche Veränderungen und/oder Austausch haben den Ausschluss jeglicher Ersatzansprüche zur Folge.

Reklamationen, die aufgrund von Falschinterpretation von Laborergebnissen durch den Kunden gemäß Punkt 11.2 erfolgen, sind ebenfalls abzuweisen. Im Falle jeglicher Reklamation ist die Haftung des Herstellers maximal auf den Wert des Testkits beschränkt. Jegliche Schäden, die während des Transports am Kit entstanden sind, unterliegen nicht der Haftung des Herstellers.














11.4 Meldung von schwerwiegenden Vorkommnissen

Jedes schwerwiegende Vorkommnis im Zusammenhang mit dem Produkt ist dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist, zu melden.

12 REFERENCES / LITERATURE

1. Penn. C. W., M. J. Baily, and Cockayne. 1985. The axial filament antigen of Treponema pallidum. Immunology 54: 635-641
2. Luger, A., B.L. Schmidt, und F. Gschnait. 1983. Neue Fortschritte der Syphilisserologie. Wr. Klein. Wsch. 95: 440-443
3. Peeling R.W., Mabey D., Kamb M. L., Chen Xiang-Sheng, Radolf J. D., and Benzaken A. S. 2018. Syphilis. Nat Rev Dis Primers. ; 3: 17073
4. Satyaputra F., Hendry S., Braddick M., Sivabalan P., Nortona R. 2021. The Laboratory Diagnosis of Syphilis. Journal of Clinical Microbiology ; Volume 59 Issue 10.
5. Brown D. L., Frank J. E. 2003. Diagnosis and Management of Syphilis. American Family Physician ; Volume 68 :2

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 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