Instructions for Use

TSH (canine) ELISA

REF **EIA-5224**

Σ **96**

DRG Instruments GmbH, Germany
Frauenbergstraße 18, 35039 Marburg
Phone: +49 (0)6421-1700 0, Fax: +49 (0)6421-1700 50
Website: www.drg-diagnostics.de
E-mail: drg@drg-diagnostics.de

DRG International, Inc., USA
841 Mountain Ave., Springfield, NJ 07081
Phone: (973) 564-7555, Fax: (973) 564-7556
Website: www.drg-international.com
E-mail: corp@drg-international.com

(231227)

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.
Si prega di usare la versione valida delle istruzioni per l'uso a disposizione con il kit.
Por favor, se usa solo la version valida de la metodico técnico incluido aqui en el kit.

Table of Contents / Inhaltsverzeichnis

1 INTRODUCTION 2
2 PRINCIPLE 2
3 WARNINGS AND PRECAUTIONS 3
4 REAGENTS 4
5 SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION 5
6 ASSAY PROCEDURE 5
7 EXPECTED NORMAL VALUES 6
8 QUALITY CONTROL 6
9 PERFORMANCE CHARACTERISTICS 7
10 LIMITATIONS OF PROCEDURE 8
11 LEGAL ASPECTS 8
12 REFERENCES / LITERATURE 8
13 SHORT INSTRUCTION 9

1 EINLEITUNG 10
2 TESTPRINZIP 10
3 HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN 11
4 KITBESTANDTEILE 12
5 PROBENENTNAHME UND -VORBEREITUNG 13
6 TESTDURCHFÜHRUNG 13
7 NORMALWERTE ..... **FEHLER! TEXTMARKE NICHT DEFINIERT.**
8 QUALITÄTSKONTROLLE 14
9 TESTCHARAKTERISTIKA 15
10 GRENZEN DES TESTS 15
11 RECHTLICHE GRUNDLAGEN 16
12 REFERENZEN / LITERATUR 16
13 KURZANLEITUNG 17

SYMBOLS USED 18

1 INTRODUCTION

1.1 Intended use

The TSH canine ELISA is an enzyme immunoassay for the quantitative measurement of canine TSH (thyrotropin) in serum and EDTA-plasma.

For manual processing! The usage of laboratory automats is the user's sole responsibility.

The kit is intended for single use only.

1.2 Description of the analyte

Thyroid stimulating hormone (TSH, thyrotropin) in dogs is similar in function to TSH found in other mammalian species, including humans. It is a glycoprotein produced by the anterior pituitary gland. Through its action on the thyroid gland, it plays a major role in maintaining normal circulating levels of the iodothyronines, T4 and T3. The production and secretion of TSH is controlled by negative feedback from circulating T4 and T3, and by the hypothalamic hormone TRH (thyrotropin releasing hormone). The TSH molecule is composed of two nonidentical subunits, α and β, that are bound together in a noncovalent manner. Within a species, the TSH α subunit is structurally identical to the α subunits of the related glycoprotein hormones (LH, FSH and chorionic gonadotropin). The β subunit of TSH and the β subunits of the related hormones are structurally hormone-specific, and account for their unique biological activities.

Hypothyroidism is considered to be a common endocrine disorder in dogs, whereas hyperthyroidism in this species is nearly unknown. Dogs mostly suffer from primary hypothyroidism, involving impaired production of the thyroid hormones, T4 and T3. In this condition, elevated TSH levels are expected. Secondary or tertiary hypothyroidism, where thyroid hormone production is low as a consequence of hypothalamic or pituitary disease, is believed to account for less than 5% of canine hypothyroidism cases. In the latter conditions, decreased levels of TSH would be expected. Usually, hypothyroidism in dogs is suspected on the basis of clinical history and the presence of decreased levels of thyroid hormones. However, suppressed thyroid hormone levels are nonspecific indicators of the disease, since they are often observed in nonthyroid illnesses. The evaluation of thyroid function and the diagnosis of hypothyroidism in dogs can be greatly improved through the use of the valid assay for the determination of canine TSH.

2 PRINCIPLE

The test kit is a solid phase enzyme immunometric assay (ELISA) in the microplate format, with liquid phase incubation for the quantitative measurement of canine TSH in serum or EDTA plasma samples. The microplate is coated with anti-TSH IgG.

Calibrators and samples are pipetted into the antibody coated microplate, followed by addition of incubation buffer. Afterwards, a horseradish peroxidase-labeled antibody is added. During a two hour incubation sandwich complexes consisting of the two antibodies and the canine TSH is formed. Non-reactive components are removed by a washing step.

A chromogenic substrate, TMB (3,3',5,5'-Tetra-Methyl-Benzidine), is added to all wells. During a 30 minutes incubation, the substrate is converted to a colored end product (blue) by the bound enzyme. Enzyme reaction is stopped by dispensing hydrochloric acid as stop solution (change from blue to yellow). The color intensity is direct proportional to the concentration of canine TSH present in the sample. The optical density (OD) of the color solution is measured with a microplate reader at 450 nm.

3 WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. This kit is intended for laboratoty use only. Use by staff, who is specially informed and trained in methods which are carried out by use of immunoassays.
2. All blood components and biological materials should be handled as potentially hazardous in use and for disposal. Follow universal precautions when handling and disposing of infectious agents.
3. Each donor unit used in the manufacturing of this product was tested by FDA approved methods for the presence of antibody to HIV 1/2 and HIV NAT, antibody to HCV, as well as for the Hepatitis B Surface Antigen (HBsAG), and found to be negative. In addition, each donor and/or donor unit was tested for Syphilis and found to be negative. Before starting the assay, read the instructions completely and carefully. Use the valid version of the package insert provided with the kit. Be sure that everything is understood.
4. The microplate contains snap-off strips. Unused wells must be stored at 2 °C – 8 °C in the sealed foil pouch and used in the frame provided.
5. Pipetting of samples and reagents must be done as quickly as possible and in the same sequence for each step.
6. 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 vials as reagent contamination may occur.
7. Mix the contents of the microplate wells thoroughly to ensure good test results. Do not reuse microwells.
8. Do not let wells dry during assay; add reagents immediately after completing the rinsing steps.
9. Allow the reagents to reach room temperature (18 °C – 25 °C) before starting the test. Temperature will affect the absorbance readings of the assay.
10. Never pipet by mouth and avoid contact of reagents and samples with skin and mucous membranes.
11. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where samples or kit reagents are handled.
12. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents or specimens may give false results.
13. Handling should be done in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guideline or regulation.
14. Do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
15. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microtiterplate readers.
16. Do not mix or use components from kits with different lot numbers. It is advised not to exchange 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.
17. Avoid contact with Stop Solution. It may cause skin irritation and burns.
18. Some reagents contain Proclin 300, CMIT and/or MIT as preservatives. In case of contact with eyes or skin, flush immediately with water.
19. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guideline or regulation.
20. For information please refer to Material Safety Data Sheets. Safety Data Sheets for this product are available upon request.
21. If product information, including labeling, is incorrect or inaccurate, please contact the kit manufacturer or supplier.

4 REAGENTS

4.1 Reagents provided

1. SORB MT **Microtiter Plate**, 12 x 8 (break apart) strips with 96 wells, ready to use;
   Wells coated with an anti-TSH antibody IgG.
2. CAL 0-5 LYO **Calibrators**, 6 vials**,** lyophilized, reconstitution required;
   TSH in serum matrix.
   The concentrations are 0, 0.2, 0.46, 1.05, 2.2 and 5.2 ng/mL**.**
   For reconstitution see "Reagent preparation" (4.3).
3. ENZ CONJ **Enzyme Conjugate**, 1 vial, 11 mL, red, ready to use;
   contains horseradish peroxidase-labeled monoclonal anti-TSH IgG antibody, in a phosphate-buffered matrix.
4. INC BUF **Incubation Buffer**, 1 vial, 6 ml, yellow, ready to use, phosphate-buffered matrix.
5. SUB TMB **TMB-Substrate Solution**, 1 vial, 22 mL clear, ready to use;
   contains tetramethylbenzidine (TMB) and hydrogen peroxide in a buffered matrix.
6. STOP SOLN **Stop Solution**, 1 vial, 7 mL, ready to use;
   contains 2 M Hydrochloric acid solution.
   Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.
7. WASH SOLN 10x **Wash Solution**, 1 vial, 50 mL (10X concentrated);
   see „Reagent preparation" (4.3).

4.2 Materials required but not provided

- A microtiter plate reader capable for endpoint measurement at 450 nm
- Calibrated variable precision micropipettes and multichannel pipettes with disposable pipette tips
- Microtiter plate mixer operating at 900 rpm
- Manual or automatic equipment for microtiter plate washing
- Absorbent paper
- Distilled water
- Timer
- Semilogarithmic graph paper or software for data reduction
- Vortex mixer

4.3 Reagent preparation

Wash Solution:

Dilute 50 ml of 10x concentrated Wash Solution with 450 ml deionized water to a final volume of 500 ml.

The diluted Wash Solution is stable for at least 12 weeks at room temperature (18 °C – 25 °C). Precipitates may form when stored at 2-8°C, which should dissolve again by swirling at room temperature (18 °C – 25 °C). The wash solution should only be used when the precipitates have completely dissolved.

Calibrators:

Reconstitute lyophilized Calibrators 0 through 5 with **1.0 mL dist. water** 30 minutes before use.

4.4 Storage conditions

When stored at 2 °C - 8 °C unopened reagents will be stable until expiration date. Do not use reagents beyond this date. Opened reagents must be stored at 2 °C - 8 °C. After first opening the reagents are stable for 30 days if used and stored properly. Microtiter wells must be stored at 2 °C - 8 °C. Take care that the foil bag is sealed tightly.

Store Calibrators refrigerated after reconstitution for up to seven days at 2 °C – 8 °C, for longer storage up to 30 days aliquoted at ≤ -20 °C .

Protect TMB-Substrate Solution from light.

4.5 Disposal of the kits

The disposal of the kit must be made according to the national regulations. Special information for this product is given in the Material Safety Data Sheet.

4.6 Damaged test kits

In case of any severe damage of the test kit or components, DRG have to be informed written, latest one week after receiving the kit. Severely damaged single components should not be used for a test run. They have to be stored until a final solution has been found. After this, they should be disposed according to the official regulations.

5 SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

For determination of canine TSH serum and EDTA plasma are the preferred sample matrices. The procedure calls for 100 µL sample per well.

The samples may be stored refrigerated at 2 °C - 8 °C for one week, or up to two months at ≤ -20 °C . To avoid repeated thawing and freezing the samples should be aliquoted.

Samples expected to contain canine TSH concentrations higher than the highest calibrator 5 (CAL 5) should be diluted in the Canine TSH Zero Calibrator (CAL 0) before assay. The additional dilution step has to be taken into account for the calculation of the results.

6 ASSAY PROCEDURE

6.1 General Remarks

- All reagents and samples must be allowed to come to room temperature (18 °C – 25 °C) before use. All reagents must be mixed without foaming.
- Once the test has been started, all steps should be completed without interruption.
- Use new disposal plastic pipette tips for each standard, control or sample in order to avoid cross contamination.
- Absorbance is a function of the incubation time and temperature. 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.
- As a general rule the enzymatic reaction is linearly proportional to time and temperature.
- Respect the incubation times as stated in this instructions for use.
- Duplicate determination of calibrators, controls and samples is recommended in order to identify potential pipetting errors.
- Microtiter plate washing is important. Improperly washed wells will give erroneous results. It is recommended to use a multichannel pipette or a multistepper, respectively, or an automatic microtiter plate washing system. Do not allow wells to dry between incubations. Do not scratch coated wells during rinsing and aspiration. Rinse and fill all reagents with care. While rinsing, check that all wells are filled precisely with Wash Solution, and that there are no residues in the wells.
- A calibrator curve must be established for every run.
- For internal quality control we suggest to use Canine Control (REF: CTL-5816). For more information please contact DRG.

6.2 Assay Procedure

1. Prepare a sufficient number of microplate wells to accommodate calibrators (0 through 5) and samples in duplicates.
2. Pipet **100 µL** of each **calibrator, control** and **sample** with new disposable tips into the appropiate wells of the microplate.
3. Dispense **50 µl** of **Incubation Buffer** into each well.
4. Add **100 µL** of **Enzyme Conjugate** to all wells.
5. Rotate for **2 hours** at room temperature (18 °C – 25 °C) on a plate mixer (900 rpm).
6. Discard the content of the wells and wash **4 times** with **300 µL buffered Wash Solution**.
   Remove as much wash solution as possible by beating the microplate carefully.
7. Add **200 µL** of **TMB/Substrate Solution** to all wells.
8. Incubate without at room temperature (18 °C – 25 °C) shaking for **30 minutes** in the dark.
9. Stop reaction by adding **50** µL of **Stop Solution** to each well.
10. Determine the optical density of each well at **450 nm**. and read the wells <u>within 15 minutes</u>.

6.3 Calculation of results

1. Calculate the average optical density values for each set of standards, controls and samples.
2. The obtained optical densities of the standards (y-axis, linear) are plotted against their corresponding concentrations (x-axis, logarithmic) either on semi-logarithmic paper or using an automated method.
3. Using the mean absorbance value for each sample determine the corresponding concentration from the standard curve.
4. Automated method: The results in the IFU have been calculated automatically using a 4 PL (4 Parameter Logistics) curve fit. 4 Parameter Logistics is the preferred calculation method. Other data reduction functions may give slightly different results.
5. The concentration of the samples can be read directly from this standard curve. Samples with concentrations higher than that of the highest standard have to be further diluted and assayed again. For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

6.3.1 Example of Typical Calibrator Curve

The figure below shows typical results for TSH canine test kits. These data are intended for illustration only and should not be used to calculate results from another run.

Calibrator	Concentration (ng/mL)	OD (450nm)
0	0	0.102
1	0.2	0.259
2	0.46	0.456
3	1.05	0.842
4	2.2	1.566
5	5.2	2.911

7 EXPECTED VALUES

Blood was collected from 20 apparently healthy untreated dogs (Beagles) and assayed after protocol.

		ng/ml				
Population	**n**	**Range**	**Mean**	**Median**	**p2.5**	**p97.5**
Serum (Beagles)	20	0.01 - 0.34	0.09	0.08	0.01	0.26

Laboratories should consider reference range limits *as guidelines only*. Because of differences which may exist between laboratories and locales with respect to breed, laboratory technique and selection of reference groups, it is important for each laboratory to establish by similar means the appropriateness of adopting the reference range suggested here.

8 QUALITY CONTROL

Good laboratory practice requires that controls are 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.

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 external Canine Control Set (REF: CTL-5816) are stated in the QC certificate included in the kit. The values and ranges stated on the QC sheet always refer to the current kit lot and should be used for direct comparison of the results.

Employ appropriate statistical methods for analysing control values and trends. If the results of the assay do not fit to 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, microtiter plate reader, 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 DRG directly.

9 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

9.1 Analytical sensitivity

The analytical sensitivity of the TSH canine ELISA was calculated by adding two standard deviations from the mean of twenty-two (22) replicate analyses of *Calibrator 0*. The analytical sensitivity of the assay is 0.049 ng/mL.

9.2 Reproducibility

9.2.1 Intra-Assay

The intra-assay variation was determined by 20 replicate measurements of 3 serum samples within one run using the DRG ELISA. The intra-assay variability is shown below:

	Sample 1	**Sample 2**	**Sample 3**
Mean (ng/mL)	0.26	1.33	2.27
SD (ng/mL)	0.02	0.05	0.11
CV (%)	7. 2	3.9	4.7
n =	20	20	20

9.2.2 Inter-Assay

The inter-assay variation was determined by duplicate measurements of 3 serum samples in 10 different runs using the DRG ELISA. The inter-assay variability is shown below:

	Sample 1	**Sample 2**	**Sample 3**
Mean (ng/mL)	0.25	1.41	2.66
SD (ng/mL)	0.02	0.08	0.21
CV (%)	7.7	6.0	47.8
n =	10	10	10

9.3 Linearity

In dilution experiments sera with high TSH concentrations were diluted with the zero calibrator and assayed in the DRG-ELISA.

Sample	**Dilution Factor**	**measured Concentration**	**expected Concentration**	**Recovery**
		[ng/mL]	**[ng/mL]**	**[%]**
1	native	4.21	-	-
	1:2	1.88	2.10	90
	1:4	1.03	1.05	98
	1:8	0.54	0.53	103
2	native	4.29	-	-
	1:2	2.01	2.15	93
	1:4	0.93	1.07	86
	1:8	0.48	0.54	89
3	native	1.16	-	-
	1:2	0.72	0.58	125
	1:4	0.35	0.29	122
	1:8	0.17	0.14	114

10 LIMITATIONS OF PROCEDURE

Reliable and reproducible results will be obtained when the assay procedure is performed with a complete understanding of the package insert instruction and with adherence to GLP (Good Laboratory Practice). Any improper handling of samples or modification of this test might influence the results.

10.1 Interfering Substances

- Do not use any hemolytic, icteric or lipemic specimens to avoid any interferences.
- Samples containing sodium azide should not be used in the assay.
- Non-specific interferences with this in vitro immunoassay cannot be excluded. If unplausible results are suspected, they should be considered invalid and verified by further testing. For diagnostic purposes, results should always be considered only in conjunction with the clinical picture and further diagnostic tests.

10.2 Drug Interferences

Until today no substances (drugs) are known to us, which have an influence to the measurement of TSH in a sample. Any medication should be taken into account when assessing the results.

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 rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable national standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include a sufficient number of controls within the test procedure for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are only valid if all controls meet the specified ranges and all other test parameters are also within the given assay specifications. In case of any doubt or concern please contact DRG.

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 therapeutic consequences should 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.

12 REFERENCES / LITERATURE

1. Ruschig, S., Kraft, W.
   Bestimmung von caninem Thyroidea-stimulierendem Hormon (cTSH) im Blutserum des Hundes und seine Reaktion im TRH-Stimulationstest.
   Tierärztl Prax 1996; 24: 479-483.
2. Iversen, L., Hoier, R., Jensen, A.L. , Skydsgaard, M., Koch, J.
   Evaluation of the analytical performance on an enzyme immunometric assay (EIA) designed to measure endogenous thyroid-stimulating hormone (TSH) in canine serum samples.
   J. Vet. Med. A 45 (1998): 93-98.
3. Ramsey, I.K., Evans, H., Herritage, M.E.
   Thyroid-stimulating hormone and total thyroxine concentrations in euthyroid, sick euthyroid and hypothyroid dogs.
   Small Animal Practice 38 (1997): 540-545.
4. Cortese, L., Oliva, G., Verstegen, J., Ciaramella, P., Persechino, A.
   Hyperprolactinaemia and galactorrhoea associated with primary hypothyroidism in a bitch.
   Small Animal Practice 38 (1997): 572-575.

13 SHORT INSTRUCTION

(all sample sizes given in µL)

MP Well		**CAL 0**	**CAL 1**	**CAL 2**	**CAL 3**	**CAL 4**	**CAL 5**	**Sample**
	ng/mL	**0**	**0.20**	**0.46**	**1.05**	**2.20**	**5.20**	
Steps	**Solution**							
Pipet	Calibrator	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**	**-**
Pipet	Sample	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**100**
Pipet	Incubation Buffer	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**
Pipet	Enzyme Conjugate	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**
Incubate for **2 h** at RT(18 °C – 25 °C) on a shaker (900 rpm)								
Decant Wash **4x with 300 µL** of buffered wash solution								
Pipet	Substrate Solution	**200**	**200**	**200**	**200**	**200**	**200**	**200**
Incubate for **30 min** at RT (18 °C – 25 °C) **in the dark**								
Pipet	Stop Solution	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**
Read at **λ = 450 nm**								

1 EINLEITUNG

1.1 Zweckbestimmung

Der TSH canine ELISA ist ein Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Hunde-TSH (Thyreotropin) in Serum und EDTA-Plasma.

Zur manuellen Abarbeitung!

Der Einsatz von Laborautomaten liegt in der Verantwortung des Anwenders. Das Kit ist zum einmaligen Gebrauch bestimmt.

1.2 Beschreibung des Analyten

Bei Hunden weisen die Schilddrüse-steuernden Hormone (TSH, Thyreotropin) einen ähnlichen Regelmechanismus auf wie bei anderen Säugetieren, Menschen eingeschlossen. Es handelt sich um ein Glykoprotein, das in der Vorderdrüse der Hypophyse gebildet wird. Durch seine Wirkung auf die Schilddrüse spielt es eine Hauptrolle bei der Aufrechterhaltung eines normalen Spiegels der Schilddrüsenhormone T3 und T4 in der Zirkulation. Die Bildung und Freisetzung von TSH wird durch die negative Rückkopplung von zirkulierendem T3 und T4 kontrolliert sowie durch das hypothalamische Hormon TRH (Thyreotropin-ausschüttendes Hormon). Das TSH-Molekül besteht aus zwei nicht-identischen Untereinheiten, α und β, die auf eine nicht-kovalente Weise miteinander verbunden sind.

Innerhalb einer Spezies ist die TSH α-Untereinheit strukturell identisch mit der α-Untereinheit der verwandten Glykoprotein-Hormone (LH, FSH und Choriongonadotropin). Die β-Untereinheit von TSH und die β-Untereinheiten von verwandten Hormonen sind strukturell Hormon-spezifisch und verleihen diesen ihre einzigartige biologische Wirksamkeit.

Schilddrüsenunterfunktion (Hypothyreose) ist eine bei Hunden häufig auftretende endokrine Störung, wohingegen Hyperthyreose bei diesen Tieren nahezu unbekannt ist. Viele Fälle von Schilddrüsenüberfunktionen bei Hunden sind primär naturbedingt, wobei die beeinträchtigte Produktion von Schilddrüsen-Hormonen eine Rolle spielt.

Unter diesen Bedingungen sind erhöhte TSH-Werte zu erwarten. Es wird angenommen, dass eine sekundäre oder tertiäre Hypothyreose, bei der die Produktion der Schilddrüsen-Hormone als Folge der hypophysären oder hypothalamischen Schädigung verringert ist, in weniger als 5% als Ursache der Schilddrüsen-Unterfunktion von Hunden anzusehen ist. Bei letzteren Fällen wäre ein erniedrigter TSH-Spiegel zu erwarten. Normalerweise wird eine Hypothyreose bei Hunden auf der Basis der klinischen Vorgeschichte und dem Vorhandensein von niedrigen Werten der Schilddrüsen-Hormonen vermutet. Dennoch sind niedrige Level von Schilddrüsen-Hormonen nicht-spezifische Indikatoren einer Erkrankung, zumal sie oft bei nicht-schilddrüsenbedingten Krankheiten beobachtet werden können. Die Beurteilung der Schilddrüsenfunktion und die Diagnose von Hypothyreose bei Hunden kann durch die Verwendung des Tests für die Bestimmung von Hunde-TSH erheblich verbessert werden.

2 TESTPRINZIP

Der vorliegende Test ist ein Enzymimmunoassay (ELISA) im Mikrotiterplatten-Format mit einer Flüssigphasen-Inkubation zur quantitativen Bestimmung von Hunde-TSH im Serum oder EDTA-Plasma. Die Festphase ist mit IgG-Antikörpern gegen TSH beschichtet.

Standards und Proben werden in die mit Antikörpern beschichtete Mikrotiterplatte pipettiert, gefolgt von einem Inkubationspuffer. Anschließend wird ein Peroxidase-markierter Antikörper zugegeben. Während der zweistündigen Inkubation bilden sich Sandwich-Komplexe aus den zwei Antikörpern und dem Hunde-TSH. Nach Abschluss der Reaktion werden überschüssige Bestandteile durch Waschen entfernt.

Zugegebenes Substrat, 3,3',5,5'-Tetra-Methyl-Benzidin (TMB), wird anschließend vom gebundenen Enzym zu einem farbigen Endprodukt (blau) umgesetzt. Die Enzymreaktion wird nach 30 Minuten durch Zugabe von Salzsäure beendet (Farbumschlag von blau nach gelb).

Die bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessene optische Dichte (OD) der Lösung ist direkt proportional zu der Konzentration des Hunde-TSH in den Standards oder den Proben.

3 HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

1. Dieser Kit darf ausschließlich zum Gebrauch im Labor verwendet werden. Die Anwendung sollte durch Personal erfolgen, das speziell in Immunoassay-Verfahren unterrichtet und ausgebildet wurde.
2. Alle Blutbestandteile und biologischen Materialien sollten als potenziell gefährlich bei der Verwendung und Entsorgung behandelt werden. Befolgen Sie bei der Handhabung und Entsorgung von Infektionserregern die allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen.
3. Humaes Material, das für die Herstellung dieses Produkts verwendet wurde, wurde mit von der FDA zugelassenen Methoden auf Antikörper gegen HIV 1/2 und HIV NAT, auf Antikörper gegen HCV sowie auf das Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAG) getestet und für negativ befunden. Darüber hinaus wurde jeder Spender und/oder jede Spendereinheit auf Syphilis getestet und für negativ befunden. Vor dem Testansatz sorgfältig die Packungsbeilage durchlesen. Nur die gültige, im Testkit enthaltene Arbeitsanleitung verwenden.
4. Die Mikrotiterplatte enthält teilbare, einzeln brechbare Mikrotiterstreifen. Unbenutzte Mikrotiterstreifen sollten im verschlossenen Folienbeutel bei 2 °C – 8 °C aufbewahrt werden und im mitgelieferten Rahmen verwendet werden.
5. Proben und Reagenzien sollten so schnell wie möglich und in einer gleichbleibenden Sequenz pipettiert werden.
6. Verwenden Sie für jedes Reagenz einen separaten Pipettenaufsatz. Das gilt besonders für die Substratlösung. Wenn der Pipettenaufsatz der Substratlösung vorher z.B. für das Konjugat verwendet wurde, kommt es zu einem Farbumschlag der Substratlösung. Gießen Sie Reagenzien nie zurück ins Fläschchen, da so Reagenz-Kontaminationen verursacht werden können.
7. Mischen Sie den Inhalt der Mikrotiterplatte sorgfältig, um gute Testergebnisse zu gewährleisten. Mikrotiterplatten nicht wiederverwenden!
8. Mikrotiterstreifen nicht austrocknen lassen während des Testlaufes. Nach jedem Waschschritt zügig im Testprotokoll fortfahren.
9. Bringen sie die Reagenzien vor dem Testansatz auf Raumtemperatur (18 °C – 25 °C). Die Temperatur wirkt sich auf die Optische Dichte des Assays aus.
10. Nicht mit dem Mund pipettieren und den Kontakt von Kitbestandteilen und Proben mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
11. In den Bereichen, in denen Proben oder Kitbestandteile verwendet werden, nicht rauchen, essen oder Kosmetika verwenden.
12. Beim Umgang mit Proben oder Reagenzien Einweg-Latexhandschuhe tragen. Die Verunreinigung von Reagenzien oder Proben mit Mikroben kann zu falschen Ergebnissen führen.
13. Der Gebrauch sollte in Übereinstimmung mit den Verfahren erfolgen, welche durch eine nationale Gefahrenstoff-Sicherheitsrichtlinie festgelegt sind.
14. Reagenzien nicht nach dem auf dem Kit-Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.
15. Alle in der Packungsbeilage angegebenen Mengen müssen genau eingehalten werden. Optimale Ergebnisse können nur durch Verwendung kalibrierter Pipetten und Mikrotiterplatten-Lesegeräte erreicht werden.
16. Komponenten von Kits mit unterschiedlichen Lotnummern nicht untereinander vertauschen oder mischen. Es wird empfohlen, keine Wells von verschiedenen Platten zu verwenden, auch nicht, wenn es sich um das gleiche Lot handelt. Die Kits können unter anderen Bedingungen gelagert oder versendet worden sein, so dass die Bindungscharakteristika der Platten leicht unterschiedlich ausfallen.
17. Der Kontakt mit der Stopplösung sollte vermieden werden, da sie Hautreizungen und Verbrennungen verursachen kann.
18. Die Entsorgung aller Bestandteile sollte gemäß den Vorschriften einer entsprechenden nationalen Gefahrenstoff-Sicherheitsrichtlinie erfolgen.
19. Einige Reagenzien enthalten ProClin 300, CMIT und/oder MIT als Konservierungsmittel. Bei Kontakt mit Augen oder Haut sofort mit Wasser spülen.
20. Informationen zu im Kit enthaltenen gefährlichen Substanzen entnehmen Sie bitte dem Sicherheitsdatenblatt. Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage direkt von der Firma DRG erhältlich.
21. Sollten Produktinformationen, einschließlich Etikettierung falsch oder inkorrekt sein, bitte den Hersteller oder den Lieferanten des Kits kontaktieren.

4 KITBESTANDTEILE

4.1 Mitgelieferte Komponenten

1. **SORB MT** **Mikrotiterplatte** 12 x 8 (teilbar) Streifen mit 96 Vertiefungen, gebrauchsfertig;
   beschichtet mit einem monoklonalen anti-TSH-Antikörper IgG.

2. **CAL 0-5** **LYO** **Standards,** 6 Fläschchen., lyophilisiert, Rekonstitution erforderlich;
   enthält hoch-aufgereinigtes Hunde-TSH in Serum.
   Die Konzentrationen sind 0, 0.2, 0.46, 1.05, 2.2 und 5.2 ng/mL**.**
   Informationen zur Rekonstitution erhalten Sie unter Kapitel 4.3 „Vorbereitung der Reagenzien“.

3. **ENZ CONJ** **Enzymkonjugat**, 1 Fläschchen., 11 mL, rot, gebrauchsfertig;
   enthält monoklonalen Meerrettich-Peroxidase-markierten monoklonalen anti-TSH IgG-Antikörper in Phosphatpuffer

4. **INC** **BUF** **Inkubationspuffer**, 1 Fl., 7 ml, gelb, gebrauchsfertig, Phosphatpuffer.

5. **SUB TMB** **TMB-Substratlösung**, 1 Fläschchen., 22 mL, gebrauchsfertig;
   (3,3',5,5'-Tetra-Methyl-Benzidin) in gepufferter Peroxid-Lösung

   STOP SOLN **Stopplösung**, 1 Fläschchen, 7 mL, gebrauchsfertig;
   enthält 2 M Salzsäure.
   Kontakt mit der Stopplösung vermeiden! Kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.

6. **WASH SOLN 10x** **Waschlösung**, 1 Fläschchen, 50 mL (10X konzentriert)
   siehe „Vorbereitung der Reagenzien“ (4.3).

4.2 Erforderliche Materialien

- Kalibriertes Mikrotiterplatten-Lesegerät mit 450 nm-Filter
- Kalibrierte variable Präzisions-Mikropipetten und Mehrkanalpipetten mit Einwegspitzen
- Mikrotiterplatten-Schüttler (900 rpm)
- Manuelle oder automatische Geräte zum Waschen von Mikrotiterplatten
- Saugfähiges Papier
- Deionisiertes Wasser
- Zeitnahmegerät
- Semilogarithmisches Papier oder Software zur Datenverarbeitung
- Vortex-Mixer

4.3 Vorbereitung der Reagenzien

Waschlösung:

Die 10-fach konzentrierte Waschlösung (50 mL) mit 450 ml deionisiertem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 500 mL verdünnen.

Die verdünnte Waschlösung ist bei Raumtemperatur (18 °C - 25 °C) für mindestens 12 Wochen stabil. Bei einer Lagerung bei 2 °C - 8 °C können sich Präzipitate bilden, die sich durch Schwenken bei Raumtemperatur wieder auflösen sollten (18 °C - 25 °C). Die Waschlösung sollte erst verwendet werden, wenn sich die Präzipitate komplett aufgelöst haben.

Standards:

Standards 0 bis 5 mit **1,0 mL dest. Wasser** 30 Minuten vor Gebrauch auflösen.

4.4 Lagerung der Reagenzien

Die ungeöffneten Reagenzien behalten bei Lagerung bei 2 °C - 8 °C ihre Reaktivität bis zum Verfallsdatum. Nach dem Verfallsdatum die Reagenzien nicht mehr verwenden. Nach dem Öffnen sollten alle Reagenzien bei 2 °C - 8 °C gelagert werden. Nach dem ersten Öffnen sind die Reagenzien bei sachgemäßer Abarbeitung und Lagerung 30 Tage stabil. Die Mikrotiterstreifen sollten bei 2 °C - 8 °C gelagert werden. Der einmal geöffnete Folienbeutel sollte stets sehr sorgfältig wieder verschlossen werden.

Standards gekühlt lagern, nach der Rekonstitution bis zu sieben Tage bei längerer Lagerung bis zu 30 Tage, aliquotiert bei ≤ -20 °C.

TMB-Substratlösung vor Licht schützen.

4.5 Entsorgung des Kits

Die Entsorgung des Kits muss gemäß den nationalen gesetzlichen Vorschriften erfolgen. Spezielle Informationen für dieses Produkt finden Sie im Materialsicherheitsdatenblatt.

4.6 Beschädigte Testkits

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

5 PROBENENTNAHME UND -VORBEREITUNG

Die Bestimmung des Hunde-TSH wird in Serum oder EDTA-Plasma durchgeführt. Es werden 100 µL pro Einzelbestimmung benötigt. Die Proben können für eine Woche gekühlt bei 2 °C - 8 °C oder bis zu zwei Monate gefroren bei ≤ -20 °C gelagert werden. Ist eine längere Lagerung beabsichtigt, sollten die Proben aliquotiert und tiefgefroren werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sollte vermieden werden.

Proben, deren Konzentration an Hunde-TSH höher als der höchste Standardwert 5 liegen könnte, sollten vor der Abarbeitung mit Hunde-TSH Null-Kalibrator vorverdünnt werden. Die zusätzliche Verdünnungsstufe ist bei der Auswertung der Ergebnisse zu berücksichtigen.

6 TESTDURCHFÜHRUNG

6.1 Allgemeine Anmerkungen

- Alle Reagenzien und Proben müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18 °C - 25 °C) gebracht und gut durchgemischt werden. Dabei sollte Schaumbildung vermieden werden.
- Wenn die Testdurchführung einmal begonnen wurde, muss sie ohne Unterbrechung zu Ende geführt werden.
- Für jeden Standard, jede Kontrolle oder Probe sollte eine neue Pipettenspitze verwendet werden, um Verschleppungen zu vermeiden.
- Die Optische Dichte ist abhängig von Inkubationszeit und Temperatur. Deshalb ist es notwendig, vor Beginn der Testdurchführung alle Reagenzien in einen arbeitsbereiten Zustand zu bringen, die Deckel der Fläschchen zu öffnen, alle benötigten Vertiefungen in den Halter zu setzen. Nur eine solche Vorbereitung garantiert gleiche Zeiten für jeden Pipettiervorgang ohne Pausen.
- Als generelle Regel gilt, dass die enzymatische Reaktion linear proportional zu Zeit und Temperatur ist.
- Wir empfehlen, Standards, Kontrollen und Proben in Doppelbestimmungen aufzutragen, um eventuelle Pipettierfehler erkennen zu können.
- Die korrekte Durchführung der Waschschritte ist entscheidend. Ungenügend gewaschene Wells ergeben falsche Ergebnisse. Die Verwendung einer Multikanalpipette bzw. eines Multisteppers oder eines automatischen Waschgerätes für Mikrotiterplatten wird empfohlen. Zwischen den Inkubationen die Wells nicht austrocknen lassen. Beim Waschen und Ausklopfen dürfen die beschichteten Wells nicht beschädigt werden. Alle Reagenzien müssen daher mit Vorsicht pipettiert werden. Beim Waschvorgang ist es wichtig, dass alle Wells vollständig und gleichmäßig mit Waschlösung gefüllt werden und nach dem Ausklopfen kein Rückstand an Flüssigkeit zurückbleibt.
- Jeder Testlauf muss eine eigene Standardkurve beinhalten.
- Zur internen Qualitätskontrolle empfehlen wir die Verwendung des Kontrollsets **Canine Control** mit der **Kat.-Nr. CTL-5816**. Für weitere Informationen kontaktieren Sie DRG.

6.2 Testdurchführung

1. Eine ausreichende Anzahl an Wells der Mikrotiterplatte zum Ansatz von Standards und Proben in Doppelbestimmung vorbereiten.
2. Jeweils **100 µL Standards, Kontrollen und Proben** entsprechend der Plattenbelegung auf den Boden der Wells pipettieren.
3. **50 µl Inkubationspuffer** in jedes Well pipettieren.
4. **100 µL Enzym-Konjugat** in jedes Well pipettieren.
5. **2 Stunden** bei Raumtemperatur (18 °C - 25 °C) auf einem Plattenschüttler (900 Upm) inkubieren.
6. Platte dekantieren und **4-mal** jeweils mit **300 µL Waschpuffer** waschen. Restliche Flüssigkeit sorgfältig durch Ausklopfen der Platte entfernen.
7. **200 µL TMB-Substratlösung** in jedes Well pipettieren.
8. **30 Minuten** ohne Schütteln bei Raumtemperatur (18 °C - 25 °C) **im Dunkeln** inkubieren.
9. Stoppen der Reaktion durch Zugabe von **50 µL Stopp-Lösung**.
10. Die Optische Dichte (OD) bei **450 nm** mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät innerhalb von 15 Minuten nach Zugabe der Stopplösung bestimmen.

6.3 Auswertung der Ergebnisse

1. Die Mittelwerte der Optischen Dichte (OD) für jedes Set von Standards, Kontrollen und Proben bestimmen.
2. Die erhaltenen OD-Werte der Standards (y-Achse, linear) werden gegen ihre Konzentration (x-Achse, logarithmisch) entweder auf semi-logarithmischem Papier oder mit einer automatisierten Methode aufgetragen.
3. Unter Verwendung der mittleren OD wird für jede Probe die entsprechende Konzentration aus der Standardkurve ermittelt.
4. Automatische Methode: Die in der Arbeitsanleitung ermittelten Werte wurden automatisch mit Hilfe der 4 Parameter Gleichung (4PL, 4 Parameter Logistics) bestimmt. Andere Auswertungsfunktionen können leicht abweichende Werte ergeben.
5. Die Konzentration der Proben kann direkt von der Standardkurve abgelesen werden. Proben, die
6. eine höhere Konzentration als die des höchsten Standards enthalten, müssen verdünnt werden. Dieser Verdünnungsfaktor muss bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden

6.3.1 Auswertungsbeispiel

Die folgende Tabelle zeigt typische Messwerte am Beispiel des DRG TSH canine Tests. Die Daten dienen nur der Illustration und sind nicht dazu bestimmt, die Ergebnisse eines anderen Testansatzes danach zu berechnen.

Standard	Konzentration (ng/mL)	OD (450 nm)
0	0	0,102
1	0.2	0,259
2	0.46	0,456
3	1.05	0,842
4	2.2	1,566
5	5.2	2,911

7 ERWARTETE WERTE

Es wurden Blutproben von 20 augenscheinlich gesunden, unbehandelten Hunden (Beagles) genommen und mit dem Test gemessen.

		ng/ml				
Population	**n**	**Bereich**	**Mean**	**Median**	**p2.5**	**p97.5**
Serum (Beagles)	20	0,01 – 0,34	0,09	0,08	0,01	0,26

Die angegebenen Normalwerte dienen nur zur Orientierung. Da Faktoren wie Hunderasse, Labortechnik und Auswahl der Referenzgruppen diese Werte beeinflussen können, ist es wichtig, dass jedes Labor durch ähnliche Mittelwerte überprüft, ob die hier vorgeschlagenen Referenzbereiche dafür geeignet sind, übernommen zu werden.

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 Kontrollwerte des TSH-Hunde Kontroll Sets (**CTL-5816**) sind im QC-Zertifikat, das dem Kit beiliegt, aufgeführt. Die im QC-Blatt angegebenen Werte und Bereiche beziehen sich stets auf die aktuelle Kitcharge und sollten zum direkten Vergleich der Ergebnisse verwendet werden.

Es sollten geeignete statistische Methoden zur Analyse von Kontroll-Werten und Trends angewendet werden. Wenn die Ergebnisse des Tests 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, Mikrotiterplatten-Lesegerät, Verfallsdatum der Reagenzien, Lagerungs- und Inkubationsbedingungen, Absaug- und Waschmethode.

Sollten Sie nach Überprüfung der vorgenannten Bereiche keinen Fehler erkannt haben, setzen Sie sich bitte mit Ihrem Lieferanten oder direkt mit der Firma DRG in Verbindung.

9 TESTCHARAKTERISTIKA

9.1 Sensitivität

Die analytische Sensitivität, definiert als Mittelwert zuzüglich der zweifachen Standardabweichung des Standards 0 (n = 22), beträgt 0,049 ng/mL.

9.2 Reproduzierbarkeit

9.2.1 Intra-Assay

Die Intra-Assay-Variation wurde durch 20 Replikatmessungen von drei Serumproben in einem Durchlauf mit dem DRG-ELISA bestimmt. Die Intra-Assay-Variabilität ist unten dargestellt:

	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Mittelwert (ng/mL)	0,26	1,33	2,28
SD (ng/mL)	0,02	0,05	0,11
CV (%)	7,2	3,9	4,7
n =	20	20	20

9.2.2 Inter-Assay

Die Inter-Assay-Variation wurde durch Doppelmessungen von drei Serumproben in zehn verschiedenen Durchläufen mit dem DRG-ELISA bestimmt. Die Variabilität zwischen den Assays ist unten dargestellt:

	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Mittelwert (ng/mL)	0,25	1,41	2,66
SD (ng/mL)	0,02	0,08	0,21
CV (%)	7,7	6,0	7,8
n =	10	10	10

9.3 Linearität

In Verdünnungsexperimenten wurden Seren mit hohen Antikörperkonzentrationen mit dem Nullkalibrator verdünnt und im DRG TSH canine ELISA untersucht.

Probe	Verdünnung	gemessene Konzentration	erwartete Konzentration	Wiederfindung
		[ng/mL]	[ng/mL]	[%]
1	nativ	4.21	-	-
	1:2	1.88	2.10	90
	1:4	1.03	1.05	98
	1:8	0.54	0.53	103
2	nativ	4.29	-	-
	1:2	2.01	2.15	93
	1:4	0.93	1.07	86
	1:8	0.48	0.54	89
3	nativ	1.16	-	-
	1:2	0.72	0.58	125
	1:4	0.35	0.29	122
	1:8	0.17	0.14	114

10 GRENZEN DES TESTS

Zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse können nur erzielt werden, wenn der Testansatz mit vollstem Verständnis der Packungsbeilage und unter Einhaltung der guten Laborpraxis durchgeführt wird. Jede unsachgemäße Behandlung von Proben oder Modifikationen dieses Tests können die Ergebnisse beeinflussen.

10.1 Interferenzen

- Keine hämolytischen, ikterischen oder lipämischen Proben verwenden, um Interferenzen zu vermeiden.
- Proben, die Natriumazid enthalten, sollten nicht in dem Test verwendet werden.
- Unspezifische Interferenzen mit diesem In-vitro-Immunoassay können nicht ausgeschlossen werden. Bei Verdacht auf unplausible Ergebnisse sollten diese als ungültig betrachtet und durch weitere Tests überprüft werden. Für diagnostische Zwecke sollten die Ergebnisse immer nur in Verbindung mit dem klinischen Bild und weiteren diagnostischen Tests betrachtet werden.

10.2 Beeinflussung durch Medikamente

Bis heute sind uns keine Substanzen (Medikamente) bekannt, die einen Einfluss auf die Messung von TSH in einer Probe haben. Jede Medikation muss bei der Bewertung der Ergebnisse berücksichtigt werden.

11 RECHTLICHE GRUNDLAGEN

11.1 Zuverlässigkeit der Ergebnisse

Der Test muss exakt gemäß der Testanleitung des Herstellers abgearbeitet werden. Darüber hinaus muss der Benutzer sich strikt an die Regeln der GLP (Good Laboratory Practice) oder andere eventuell anzuwendende Regeln oder nationale gesetzliche Vorgaben halten. 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 mitlaufen zu lassen.

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 Sie bezüglich eines Ergebnisses Zweifel oder Bedenken haben, setzen Sie sich bitte mit der Firma DRG 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.

12 REFERENZEN / LITERATUR

1. Ruschig, S., Kraft, W.
   Bestimmung von caninem Thyroidea-stimulierendem Hormon (cTSH) im Blutserum des Hundes und seine Reaktion im TRH-Stimulationstest.
   Tierärztl Prax 1996; 24: 479-483.
2. Iversen, L., Hoier, R., Jensen, A.L. , Skydsgaard, M., Koch, J.
   Evaluation of the analytical performance on an enzyme immunometric assay (EIA) designed to measure endogenous thyroid-stimulating hormone (TSH) in canine serum samples.
   J. Vet. Med. A 45 (1998): 93-98.
3. Ramsey, I.K., Evans, H., Herritage, M.E.
   Thyroid-stimulating hormone and total thyroxine concentrations in euthyroid, sick euthyroid and hypothyroid dogs.
   Small Animal Practice 38 (1997): 540-545.
4. Cortese, L., Oliva, G., Verstegen, J., Ciaramella, P., Persechino, A.
   Hyperprolactinaemia and galactorrhoea associated with primary hypothyroidism in a bitch.
   Small Animal Practice 38 (1997): 572-575.

13 KURZANLEITUNG

(alle Volumenangaben in µL)

MT-Platten-Well	ng/mL	CAL 0	CAL 1	CAL 2	CAL 3	CAL 4	CAL 5	Probe
		0	0,20	0,46	1,05	2,20	5,20	
Schritte	**Lösung**							
Pipettieren	Standard	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**	**-**
Pipettieren	Probe	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**100**
Pipettieren	Inkubationspuffer	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**
Pipettieren	Enzymkonjugat	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**
2 Stunden bei RT (18 °C - 25 °C) auf einem Schüttler (900 rpm) inkubieren								
Dekantieren **4x mit 300 µL** Waschlösung waschen								
Pipettieren	Substratlösung	**200**	**200**	**200**	**200**	**200**	**200**	**200**
30 min bei RT (18 °C - 25 °C) **im Dunkeln** inkubieren								
Pipettieren	Stopplösung	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**	**50**
Messen bei **λ = 450 nm**								

SYMBOLS USED

Symbol	English	Deutsch	Italiano	Español	Français
CE	European Conformity	CE-Konformitäts-kennzeichnung	Conformità europea	Conformidad europea	Conformité normes européennes
	Consult instructions for use *	Gebrauchsanweisung beachten *	Consultare le istruzioni per l'uso	Consulte las instrucciones de uso	Consulter les instructions d'utilisation
IVD	*In vitro* diagnostic medical device *	*In-vitro*-Diagnostikum *	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico In vitro	Dispositif médical de diagnostic in vitro
REF	Catalogue number *	Artikelnummer *	Numero di Catalogo	Nûmero de catálogo	Référence de catalogue
LOT	Batch code *	Fertigungslosnummer, Charge *	Codice del lotto	Codigo de lote	Numéro de lot
Σ	Contains sufficient for <n> tests *	Ausreichend für <n> Prüfungen *	Contenuto sufficiente per "n" saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenu suffisant pour "n" tests
	Temperature limit *	Temperaturbegrenzung *	Temperatura di conservazione	Temperatura de conservacion	Température de conservation
	Use-by date *	Verwendbar bis *	Utilizzare prima del	Establa hasta	Utiliser jusque
	Manufacturer *	Hersteller *	Fabbricante	Fabricante	Fabricant
	Distributed by	Vertreiber	Distributore	Distribuidor	Distributeur
	Biological risks*	Biologische Risiken*	Rischi biologici	Riesgos biológicos	Risques biologiques
	Caution *	Achtung *	Attenzione	Precaución	Attention
RUO	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Solo a scopo di ricerca	Sólo para uso en investigación	Seulement dans le cadre de recherches
Content	Content	Inhalt	Contenuto	Contenido	Contenu
Volume/No.	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Quantità	Volumen/Número	Volume/Quantité