

Chymotrypsin ELISA Kit

Zur in vitro Bestimmung von Chymotrypsin in Stuhlproben

For the in vitro determination of Chymotrypsin in stool

Gültig ab/valid from 17.01.2005

Artikelnummer/Catalogue No.: K 6910

Packungsgröße/Package size: 96 Tests/96 determinations

Lagerung/Storage: 2 - 8 °C



Inhaltsverzeichnis	Seite/Page
Table of contents	2
1. VERWENDUNGSZWECK	3
2. EINLEITUNG	3
3. TESTPRINZIP	3
4. INHALT DER TESTPACKUNG	4
5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL	4
6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN	5
7. HINWEISE UND VORSICHTSMABNAHMEN	6
8. PROBENVORBEREITUNG	6
9. TESTDURCHFÜHRUNG	7
HINWEISE	7
PIPETTIERSCHEMA	7
10. ERGEBNISSE	9
MUSTEREICHKURVE	9
11. EINSCHRÄNKUNGEN	10
12. QUALITÄTSKONTROLLE	10
ERWARTETE ERGEBNISSE	10
13. TESTCHARAKTERISTIKA	11
SENSITIVITÄT	11
14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST	12

Table of contents	Page
1. INTENDED USE	14
2. CLINICAL RELEVANCE	14
3. PRINCIPLE OF THE TEST	14
4. MATERIAL SUPPLIED	15
5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED	16
6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS	16
7. PRECAUTIONS	17
8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION	17
9. ASSAY PROCEDURE	18
PROCEDURAL NOTES	18
TEST PROCEDURE	18
10. RESULTS	20
TYPICAL CALIBRATION CURVE	20
11. LIMITATIONS	21
12. QUALITY CONTROL	21
EXPECTED VALUES	21
13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	22
SENSITIVITY	22
14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE	23

1. VERWENDUNGSZWECK

Der hier beschriebene Assay ist für die Bestimmung von **Chymotrypsin** aus Stuhl. Der Assay ist nur für in vitro Diagnostik produziert.

2. EINLEITUNG

Chymotrypsin wird als exkretorisches Pankreasenzym nach Nahrungsaufnahme in das Duodenum sezerniert und wirkt hydrolytisch auf Nahrungseiweiße. Ein geringer Anteil der aktiven Enzymform wird mit dem Stuhl, gebunden an Stuhlpartikel, ausgeschieden. Bei ausgeprägter Pankreasinsuffizienz im Verlaufe einer chronischen Pankreatitis ist die Enzymsekretion deutlich eingeschränkt, so daß erniedrigte Chymotrypsin-Konzentrationen im Stuhl gemessen werden können.

Indikation:

- Verdacht auf exokrine Pankreasinsuffizienz
- Chronische Pankreatitis

3. TESTPRINZIP

Dieser Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA) dient zur quantitativen Bestimmung von Chymotrypsin aus Stuhlproben. In diesem ELISA wird das Chymotrypsin aus den Proben an die auf der Mikrotiterplatte fixierten Antikörper gebunden. Die Quantifizierung des gebundenen Chymotrypsin erfolgt nach einem Waschvorgang durch Zugabe eines Detektionsantikörpers. Nach einem weiteren Waschschrift wird Peroxidase-markierter anti-Maus-Antikörper zugegeben. Die Enzymmenge ist dem Chymotrypsingehalt direkt proportional. Als Substrat wird eine TMB-Lösung eingesetzt. Die entstandene chromogene Verbindung kann photometrisch bei 450 nm gemessen und anhand einer mitgeführten Eichkurve direkt quantifiziert werden.

4. INHALT DER TESTPACKUNG

Artikel Nr.	Kit Komponenten	Menge
K 6910MTP	Mikrotiterplatte, vorbeschichtet	96
K 6910WP	ELISA Waschpufferkonzentrat 10x	2 x 100 ml
K 6910A2	2. Antikörper, (Maus anti Chymotrypsin)	1 x 150 µl
K 6910K	POD Antikörper (Ziege anti Maus)	1 x 150 µl
K 6910VP	2. Antikörper Verdünnungspuffer	1 x 12 ml
K 6910ST	Standards, gebrauchsfertig (1000; 250; 125; 62.5; 15.6; 0 ng/ml)	6 x 250 µl
K 6910ko	Kontrolle, gebrauchsfertig	1 x 250 µl
K 6910TMB	TMB Substrat (Tetramethylbenzidin), gebrauchsfertig	1 x 15 ml
K 6910PV	Standardverdünnungspuffer	1 x 11 ml
K 6910AC	ELISA Stopplösung, gebrauchsfertig	1 x 7 ml

5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- 1,5 ml Reaktionsgefäße (z.B. Eppendorf)
- div. Pipetten. Beim Arbeiten mit kleinen Volumina ist auf die Verwendung geeichter Pipetten und auf besonders sorgsamem Umgang zu achten (z. B. Pipettenspitze nach der Entnahme abstreifen).
- Zentrifuge
- ELISA-Reader
- Mikrotiterplattenschüttler

6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Beim Mehrfachansatz der Platte ist bitte darauf zu achten, daß die Reagenzien wie in der Vorschrift beschrieben gelagert werden und **nur die für den jeweiligen Ansatz benötigten Reagenzienmengen frisch angesetzt werden** (z.B. peroxidase-markierter Antikörper ist in der größten Verdünnungsstufe nicht haltbar). Der Kit kann so bis zu 4 x je nach Probenaufkommen (Innerhalb des angegebenen Verfallsdatums) verwendet werden.
- Reagenzien mit einem **Volumen kleiner 100 µl** sollten vor Gebrauch kurz anzentrifugiert werden, um Volumenverluste zu vermeiden.
- Das **Waschpufferkonzentrat** muß vor Gebrauch **1:10** in aqua dest. verdünnt werden (100 ml Konzentrat + 900 ml aqua dest). Aufgrund der hohen Salzkonzentration in den Konzentraten kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich bei Raumtemperatur auf. Das **Pufferkonzentrat** kann bei **2-8°C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum aufbewahrt werden. Die **verdünnte Pufferlösung** ist bei **2-8 °C 1 Monat** (in einem geschlossenen Gefäß) haltbar.
- Der **2. Antikörper** ist vor Gebrauch **1:100** mit 2. AK-Verdünnungspuffer zu verdünnen (100 µl 2. Antikörper + 10 ml Verdünnungspuffer). Der **unverdünnte 2. Antikörper** ist bei **2-8°C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. Die **verdünnte Antikörperlösung kann nicht aufbewahrt werden**.
- Der **POD-Antikörper** wird **1:100** in Waschpuffer verdünnt (100 µl POD-Antikörper in 10 ml Waschpuffer pipettieren). Der **unverdünnte POD-Antikörper** ist bei **2-8°C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. Die **verdünnte Antikörperlösung kann nicht aufbewahrt werden**.

7. HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

- Standards und Kontrollen sind auf Humanserum aufgebaut. Sie sind auf HIV und Hepatitis B getestet und für negativ befundet worden. Jedoch sollten die Testkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.
- Die Stopplösung besteht aus verdünnte H_2SO_4 . H_2SO_4 ist eine starke Säure und muß auch im verdünnten Zustand mit Vorsicht behandelt werden. H_2SO_4 verursacht bei Kontakt mit der Haut Verätzungen. Es sollte daher mit Schutzhandschuhen und Schutzbrille gearbeitet werden. Bei Kontakt mit der Säure muß die verätzte Stelle sofort mit viel Wasser gespült werden.

8. PROBENVORBEREITUNG

Stuhlproben

Ca. **100 mg** Stuhl einwiegen und die genau eingewogene Stuhlmenge notieren und in **5 ml** des Waschpuffers lösen (sehr gut mischen). Danach wird die Suspension für 10 Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert. 1 ml des Überstandes wird abgenommen, in ein Eppendorfröhrchen überführt und ein weiteres Mal in einer Eppendorfszentrifuge bei 13000 rpm für 5 min. zentrifugiert (der erhaltene Überstand ist bei $-20^{\circ}C$ für ca. einen Monat haltbar). Der Überstand wird vor jedem Testansatz für 2 Minuten bei 13000 rpm in der Eppendorfszentrifuge zentrifugiert, hiervon werden dann **20 μ l** in den Test eingesetzt.

Zur einfacheren Dosierung und Homogenisierung des Probenmaterials empfehlen wir das Probenvorbereitungssystem der Fa. Roche Diagnostics/Mannheim (Best. Nr. 745804).

9. TESTDURCHFÜHRUNG

Hinweise

- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Qualitätskontrollen sollten immer mitgemessen werden.
- Inkubationszeit, Temperatur und Pipettiervolumen sind vom Hersteller festgelegt. Jegliche Abweichung der Testvorschrift, die nicht mit dem Hersteller koordiniert wurde, kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Immundiagnostik übernimmt keine Haftung.

Pipettierschema

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

Die Bestimmungen sind in der Mikrotiterplatte in Doppelwerten durchzuführen.

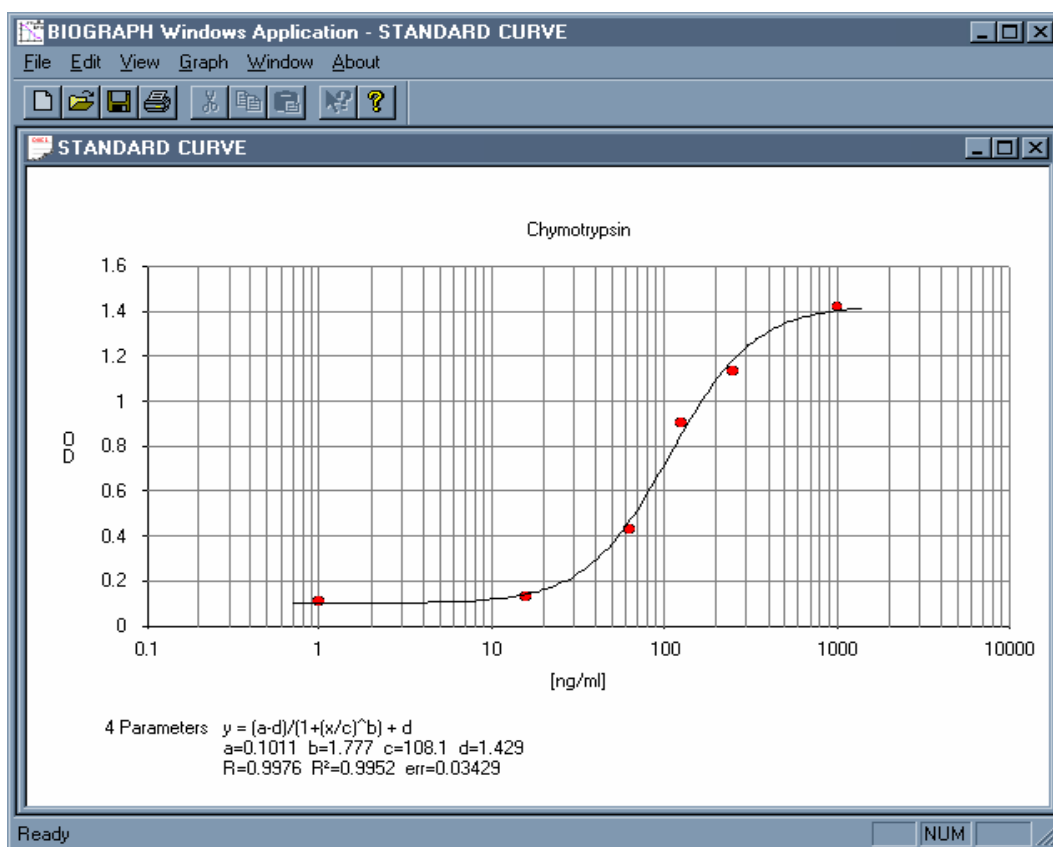
1. **100 µl** Standardverdünnungspuffer pro Vertiefung pipettieren.
2. **20 µl** Standards, Kontrolle und Patientenproben pro Vertiefung pipettieren.
3. **1 Stunde** bei Raumtemperatur unter Schütteln inkubieren.
4. Inhalt der Platte verwerfen, die Vertiefungen **5 x mit je 250 µl** Waschpuffer waschen.
5. **100 µl** des verdünnten 2.Antikörpers pro Vertiefung pipettieren.
6. **1 Stunde** bei Raumtemperatur unter Schütteln inkubieren.
7. Inhalt der Platte verwerfen, die Vertiefungen **5 x mit je 250 µl** Waschpuffer waschen.
8. **100 µl** des Peroxidase-markierten Antikörpers pro Vertiefung pipettieren.
9. **1 Stunde** bei Raumtemperatur unter Schütteln inkubieren.
10. Inhalt der Platte verwerfen, die Vertiefungen **5 x mit je 250 µl** Waschpuffer waschen.

11. **100 µl** TMB-Lösung pro Vertiefung pipettieren.
12. **5 - 15 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren bis eine ausreichend große Farbdifferenz auftritt.
13. **50 µl** Stopplösung pro Vertiefung pipettieren.
14. Die Extinktion wird **sofort** im Mikrotiterplattenphotometer bei **450 nm** gegen die Referenzwellenlänge 620 nm (oder 690 nm) gemessen. Sollte die Extinktion des höchsten Standards den Meßbereich des Photometers übersteigen, sollte sofort bei 405 nm gegen 620 nm (690 nm) gemessen werden.

10. ERGEBNISSE

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

Mustereichkurve



Konzentration [ng/ml]	1000	250	125	62.5	15.6	0
OD Mittelwert	1.423	1.134	0.905	0.434	0.138	0.113

Die hier aufgeführten Ergebnisse sind ein Beispiel für eine Standardkurve. Sie dürfen nicht für die Auswertung des Assays verwendet werden.

Stuhlproben:

Die ermittelte Chymotrypsin Konzentration der Stuhlprobe wird wie im folgenden Beispiel berechnet:

Einwaage: 80 mg (1ml Stuhl = 1g) = 0,08 ml

Verdünnungsstufe 1: 5ml / 0,08ml = 62,5

Verdünnungsfaktor: 62,5

Die ermittelte Stuhlkonzentration wird mit **62,5** multipliziert, um die tatsächliche Konzentration zu ermitteln. **Der Faktor ändert sich mit der Einwaage der Stuhlprobe.**

11. EINSCHRÄNKUNGEN

Proben mit einer Chymotrypsin Konzentration größer dem größten Standard sollten mit Waschpuffer verdünnt werden und nochmals im Assay eingesetzt werden.

12. QUALITÄTSKONTROLLE

Für die Qualitätskontrolle empfehlen wir die Verwendung unabhängiger externer Kontrollen.

*Erwartete Ergebnisse***Normwerte:**

Stuhl: > 6,4 µg/ml Mittelwert ermittelt bei
Immundiagnostik AG (n= 80)

Wir empfehlen jedem Labor einen eigenen Normwertbereich zu etablieren.

13. TESTCHARAKTERISTIKA

Sensitivität

Die Nachweisgrenze wurde festgelegt als $B_0 + 2 \text{ SD}$. Gemessen wurde 20 mal der Standard null.

Probe	Chymotrypsin Mittelwert [OD]	Standardab- weichung	Nachweis- grenze [ng/ml]
1	0.00625	0.00301	14.2

14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD Richtlinie 98/79/EC hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Falls für die Herstellung der Testkomponenten Humansenen verwendet wurde, sind diese auf HIV und Hepatitis B getestet und für negativ befunden worden. Jedoch sollten die Testkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.
- Die Testkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen Natriumazid oder Thimerosal. Natriumazid/Thimerosal sind giftig. Substrate für enzymatische Farbreaktionen sind als giftig und karzinogen beschrieben. Jeder Kontakt mit der Haut oder der Schleimhaut ist zu vermeiden.
- Alle im Test enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zu wissenschaftlichen Zwecken oder, wenn vermerkt, zur in vitro Diagnostik eingesetzt werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf der Verpackung angegebenen Datums nicht mehr verwendet werden. Einzelkomponenten verschiedener Chargen dürfen nicht gemischt oder ausgetauscht werden.
- Für die Qualitätskontrolle sind die, für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.
- Die charakteristischen Testdaten wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettierolumina der verschiedenen Komponenten wurden firmenintern festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller- der Immundiagnostik zurück zu senden.

Chymotrypsin ELISA Kit

For the in vitro determination of Chymotrypsin in stool

Gültig ab/valid from 17.01.2005

Artikelnummer/Catalogue No.: K 6910

Packungsgröße/Package size: 96 Tests/96 determinations

Lagerung/Storage: 2 - 8 °C



1. INTENDED USE

The *Immundiagnostik* Assay is a sandwich Enzyme Immuno Assay intended for the quantitative determination of **Chymotrypsin** in stool. For in vitro diagnostic use only.

2. CLINICAL RELEVANCE

Chymotrypsin is a serine protease, which is secreted as excretory enzyme from the pancreas after food intake into the duodenum. Here food proteins are hydrolytically cleaved, preferentially next to aromatic residues. A small part of the active form of the enzyme is excreted within the stool. In the case of pancreas insufficiency secondary to a chronic pancreatitis, the secretion of the enzyme is reduced markedly, so that a reduced chymotrypsin activity can be measured in stool specimen.

The advantage of this assay is that the concentration of the enzyme is accurately determined and not the enzyme's activity.

Many studies have shown a longer stability of **chymotrypsin** (12 days at room temperature) compared to pancreatic elastase. Therefore, the **chymotrypsin ELISA** is a reliable and low-priced alternative to the pancreatic elastase assay.

Indications

- Chronic pancreatitis
- Exocrine pancreas insufficiency

3. PRINCIPLE OF THE TEST

This Enzyme Immuno Assay is a sandwich assay for the determination of Chymotrypsin in stool samples. The wells of the microtitre plate are coated with polyclonal antibodies directed against Chymotrypsin Protein. In a first incubation step, the Chymotrypsin in the samples is bound to the coated antibodies (in excess). To remove all unbound substances, a washing step is carried out.

In a second incubation step, a second antibody against Chymotrypsin is bound to the antigen. After another washing step, to remove all unbound substances, the solid phase is incubated with a peroxidase labelled Antibody. After a last washing step the plate is incubated with the substrate, Tetramethylbenzidine (TMB). An acidic stopping solution is then added. The

color converts to yellow. The intensity of the yellow color is directly proportional to the concentration of Chymotrypsin in the sample. A dose response curve of the absorbance (at 450 nm) unit vs. concentration is generated. Chymotrypsin, present in the patient samples, is determined directly from this calibration curve.

The combination of two specific antibodies in the Chymotrypsin ELISA drastically reduces the possibility of wrong-negatives results and offers a secure diagnostic system to the user.

4. MATERIAL SUPPLIED

Catalogue No.	Kit Components	Quantity
K 6910MTP	one holder with precoated strips	96
K 6910WP	ELISA wash buffer concentrate 10x	2 x 100 ml
K 6910A2	2 nd Antibody, (Mouse anti Chymotrypsin)	1 x 150 µl
K 6910K	Conjugate (POD Antikörper Goat anti Mouse)	1 x 150 µl
K 6910VP	2 nd Antibody dilution buffer	1 x 12 ml
K 6910ST	Calibrators, ready-to-use (1000; 250; 125; 62.5; 15.6; 0 ng/ml)	6 x 250 µl
K 6910ko	Control, ready-to-use	1 x 250 µl
K 6910TMB	TMB substrate (Tetramethylbenzidine), ready to use	1 x 15 ml
K 6910PV	Dilution buffer for the calibrators	1 x 11 ml
K 6910AC	ELISA stop solution, ready to use	1 x 7 ml

5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Distilled or deionized water
- Precision pipettes calibrated to deliver 10-1000 µl and disposable tips
- A multi-channel dispenser or repeating dispenser
- Centrifuge capable of 3000 x g
- Absorbent paper
- Vortex-Mixer
- Microplate reader 450 nm

6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS

- To run the assay more than one time, make sure that the reagents are carefully stored at 2-8°C. Prepare just the appropriate amount necessary for the assay.
- The **ELISA wash buffer concentrate** should be diluted with aqua dest. **1:10** before use (add 450 ml aqua dest. to 50 ml ELISA wash buffer concentrate). Crystals may be formed due to high salt concentration. The crystals have to be dissolved **before dilution of the buffer concentrate** using a water bath (37°C). The buffer concentrates are stable at 2-8°C up to the expiry date stated on the label. Diluted solutions could be stored at 2-8°C for 1 month.
- The **2nd Antibody** has to be diluted **1:100** in 2nd antibody dilution buffer (100 µl 2nd antibody and 10 ml dilution buffer). The antibody is stable at 2 -8 °C up to the expiry date stated the label. **Diluted antibody solution is not stable and could not be stored.**
- The **POD labeled antibody** has to be diluted **1:100** in ELISA wash buffer (100 µl POD antibody and 10 ml ELISA wash buffer). The antibody is stable at 2 -8 °C up to the expiry date stated the label. **Diluted antibody solution is not stable and could not be stored.**

7. PRECAUTIONS

- For in vitro diagnostic use only.
- The calibrators and controls contain human source material which was tested and found to be non-reactive to HBsAg, anti-HIV-1/2. Since no method can offer complete assurance that hepatitis B virus, HIV-1/2, HCV or other infectious agents are absent, these reagents should be handled as if potentially infectious.
- The stop solution consists of diluted sulfuric acid, a strong acid. Although diluted, it still must be handled with care. It can cause burns and should be handled with gloves, eye protection, and appropriate protective clothing. Any spill should be wiped out immediately with copious quantities of water. Do not breath vapor and avoid inhalation.
- Reagents should not be used beyond the expiration date stated on kit label.

8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Faeces

The test can be performed on either fresh or frozen stool samples. The samples should be refrigerated and could be stored at 2-8°C for 2 days. If the test cannot be performed within this period the specimen should be stored at -20°C or colder.

Add a stool sample of about 100 mg (size of a pea, please note the exact weight for the calculation) to 5 ml of the ELISA wash buffer and homogenize very thoroughly for 15 seconds on a Vortex-mixer. Centrifuge the suspension for 10 min at 3000 rpm. 1 ml of the supernatant is given into an Eppendorf tube and centrifuged once more at 13,000 rpm for 5 min. This supernatant could be stored at -20°C for about 1 month. 100 µl of this supernatant is used in the assay.

Immundiagnostik recommends the use of Roche Diagnostics / Mannheim sample preparation tubes, article No. 745804, for sample preparation.

9. ASSAY PROCEDURE

Procedural notes

- Do not mix different lot numbers of any kit component within the same assay.
- The quality control guidelines should be observed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the different components are defined by the producer. Any variations of the test procedure, that are not coordinated with the producer, may influence the test results. Immundiagnostik can therefore not be held responsible for any damage.
- Carry out the assay with the actual manual delivered with the kit.

Test procedure

The precoated microtiter strips have to be washed **5 x with 250 µl** ELISA wash buffer before use. Bring all reagents to room temperature. Mix reagents well before use. Avoid direct sun light during all incubation steps. Covering the microtitre plate during the different incubation steps is recommended. Carrying out the tests in duplicate is also recommended.

1. Add **100 µl** calibrator dilution buffer into each well
2. Add 20 µl calibrators, control and samples and into each well.
3. Incubate for **1 hour**, shaking on a horizontal mixer, at room temperature.
4. Aspirate and wash the wells **5 x with 250 µl** ELISA wash buffer.
5. Add **100 µl** prediluted 2nd antibody into each well.
6. Incubate for **1 hour**, shaking on a horizontal mixer, at room temperature.
7. Aspirate and wash the wells **5 x with 250 µl** ELISA wash buffer.
8. Add **100 µl** prediluted Peroxidase-labeled antibody into each well.
9. Incubate for **1 hour**, shaking on a horizontal mixer, at room temperature.

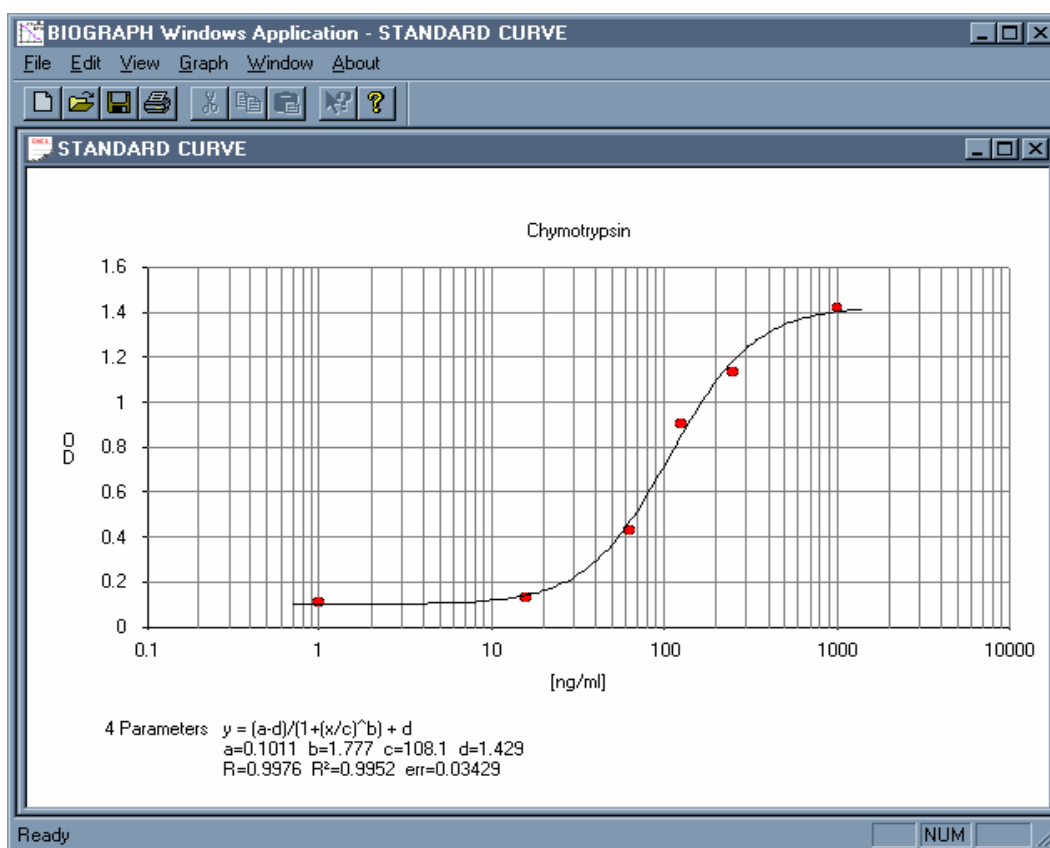
10. Decant the content of the plate and wash the wells **5 x with 250 µl** ELISA wash buffer.
11. Add **100 µl** TMB substrate solution into each well.
12. Incubate for **5 - 15 minutes** at room temperature in the dark.
13. Add **50 µl** stop solution into each well and mix shortly.
14. Measure the extinction of the samples at **450 nm** directly after adding the stop solution.

10. RESULTS

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

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

Typical calibration curve



Concentration [ng/ml]	1000	250	125	62.5	15.6	0
OD mean value	1.423	1.134	0.905	0.434	0.138	0.113

These data are for demonstration only and cannot be used instead of data obtained from the actual assay.

Faecal

To calculate the Chymotrypsin concentration of faecal specimen see the following example:

weight: 80 mg (1ml stool = 1g) = 0.08 ml

dilution step 1: 5 ml / 0,08 ml = 62.5

dilution factor: 62.5

Multiply the results with the calculated dilution factor (in this case 62.5) to get the Chymotrypsin concentration of the stool samples. **Please note:** the dilution factor depends on the weight of the used faecal specimen.

11. LIMITATIONS

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

12. QUALITY CONTROL

Immundiagnostik recommends commercial control samples for internal quality control.

Control samples or pools should be analyzed with each run of calibrators and patient samples. Results, generated from the analysis of control samples, should be evaluated for acceptability using appropriate statistical methods. In assays in which one or more of the quality control sample values lie outside the acceptable limits, the results for the patient sample may not be valid.

Expected values

Stool: > 6.4 µg/ml mean made by Immundiagnostik (n=80)

These normal ranges should be used as a guideline only. It is recommended that each laboratory establishes an own expected range for its patient population.

13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Sensitivity

n=20

Sample	Chymotrypsin mean value [OD]	Standard variation	Detection limit [ng/ml]
1	0.00625	0.00301	14.2

14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- This assay was produced and put on the market according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- The test components which are made of human serum are tested for HVB and HIV and found to be negative. However, since no test method can offer complete assurance that infectious agents are absent, these reagents should be handled as recommended for any potentially infectious human serum or blood specimen. The normal precautions for laboratory working should be observed.
- Reagents of the test package contain sodium azide as a bactericide. Contact with skin or mucous membranes has to be avoided.
- All reagents in the test package are to be used for in-vitro diagnostics only.
- The reagents should not be used after the date of expiry (see label on the test package).
- Single components with different lot numbers should not be mixed or exchanged.
- The guidelines for medical laboratories should be observed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the different components have been defined by the producer. Any alterations of the test procedure, that are not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik can therefore not be held responsible for any damage.