



Instructions for Use

LH (Urine) ELISA

IVD



REF EIA-1290



96



DRG 

DRG Instruments GmbH, Germany
Frauenbergstraße. 18, D-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

Distributed by:

DRG 

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

Contents / Inhaltsverzeichnis / Contenuti / Contenido / Contenu

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

1	EINLEITUNG	11
2	TESTPRINZIP	11
3	VORSICHTSMAßNAHMEN.....	12
4	BESTANDTEILE DES KITS	13
5	PROBENVORBEREITUNG.....	14
6	TESTDURCHFÜHRUNG	14
7	ERWARTETE WERTE	16
8	QUALITÄTS-KONTROLLE.....	16
9	ASSAY CHARACTERISTIKA.....	17
10	GRENZEN DES TESTS	17
11	RECHTLICHE GRUNDLAGEN	18
12	REFERENZEN / LITERATUR	18

	SYMBOLS USED	19
--	--------------------	----

1 INTRODUCTION

1.1 Intended Use

The **DRG LH (Urine) ELISA** is an enzyme immunoassay for the quantitative *in vitro diagnostic* measurement of LH in urine. This test is used to detect the midcycle LH surge in urine, which is an aid in predicting the time of ovulation.

1.2 Summary and Explanation

Luteinizing hormone (LH) is produced in both men and women from the anterior pituitary gland in response to luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH or Gn-RH), which is released by the hypothalamus (1-3). LH, also called interstitial cell-stimulating hormone (ICSH) in men, is a glycoprotein with a molecular weight of approximately 30.000 daltons (4). It is composed of two non covalently associated dissimilar amino acid chains, alpha and beta (5). The alpha chain is similar to that found in human thyroid-stimulating hormone (TSH), follicle stimulating hormone (FSH), and human chorionic gonadotropin (hCG). The difference between these hormones lie in the amino acid composition of their beta subunits, which account for their immunological differentiation (6-8).

The basal secretion of LH in men is episodic and has the primary function of stimulating the interstitial cells (Leydig cells) to produce testosterone. The variation in LH concentrations in women is subject to the complex ovulatory cycle of healthy menstruating women, and depends upon a sequence of hormonal events along the gonado-hypothalamic-pituitary axis. The decrease in progesterone and estradiol levels from the preceeding ovulation initiates each menstrual cycle (9,10). As a result of the decrease in hormone levels, the hypothalamus increases the secretion of gonadotropin-releasing factors (GnRF), which in turn stimulates the pituitary to increase FSH production and secretion (4). The rising FSH levels stimulate several follicles during the follicular phase, one of these will mature to contain the egg. As the follicle develops, estradiol is secreted, slowly at first, but by day 12 or 13 of a normal cycle increasing rapidly. LH is released as a result of this rapid estradiol rise because of direct stimulation of the pituitary and increasing GnRF and FSH levels. These events constitute the pre-ovulatory phase (11).

Ovulation occurs approximately 12 to 18 hours after the LH reaches a maximum level. After the egg is released, corpus luteum is formed which secretes progesterone and estrogen - two feedback regulators of LH (3,10).

The luteal phase rapidly follows this ovulatory phase, and is characterized by high progesterone levels, a second estradiol increase, and low LH and FSH levels (12). Low LH and FSH levels are the result of the negative feedback effects of estradiol and progesterone on the hypothalamic-pituitary axis.

After conception, the developing embryo produces hCG, which causes the corpus luteum to continue producing progesterone and estradiol. The corpus luteum regresses if pregnancy does not occur, and the corresponding drop in progesterone and estradiol levels results in menstruation. The hypothalamus initiates the menstrual cycle again as a result of these low hormone levels (12).

Patients suffering from hypogonadism show increased concentrations of serum LH. A decrease in steroid hormone production in females is a result of immature ovaries, primary ovarian failure, polycystic ovary disease, or menopause; in these cases, LH secretion is not regulated (10,13). A similar loss of regulatory hormones occurs in males when the testes develop abnormally or anorchia exists. High concentrations of LH may also be found in primary testicular failure and Klinefelter syndrome, although LH levels will not necessarily be elevated if the secretion of androgens continues. Increased concentrations of LH are also present during renal failure, cirrhosis, hyperthyroidism, and severe starvation (10,14).

A lack of secretion by the anterior pituitary may cause lower LH levels. As may be expected, low levels may result in infertility in both males and females. Low levels of LH may also be due to the decreased secretion of GnRH by the hypothalamus, although the same effect may be seen by a failure of the anterior pituitary to respond to GnRH stimulation. Low LH values may therefore indicate some dysfunction of the pituitary or hypothalamus, but the actual source of the problem must be confirmed by other tests (10).

In the differential diagnosis of hypothalamic, pituitary, or gonadal dysfunction, assays of LH concentration are routinely performed in conjunction with FSH assays since their roles are closely interrelated. Furthermore, the hormone levels are used to determine menopause, pinpoint ovulation, and monitor endocrine therapy.

2 PRINCIPLE OF THE TEST

The DRG LH (Urine) ELISA Kit is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) based on the sandwich principle.

The microtiter wells are coated with a monoclonal antibody directed towards a unique antigenic site of the β -LH molecule. An aliquot of patient sample containing endogenous LH is incubated in the coated well with enzyme conjugate, which is an anti-LH antibody conjugated with horseradish peroxidase. After incubation the unbound conjugate is washed off. The amount of bound peroxidase is proportional to the concentration of LH in the sample.

Having added the substrate solution, the intensity of colour developed is proportional to the concentration of LH in the patient sample.

3 WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. This kit is for in vitro diagnostic use only. For professional use only.
2. 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. All reagents, however, should be treated as potential biohazards in use and for disposal.
3. 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 to 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 (21 °C to 26 °C) before starting the test. Temperature will affect the absorbance readings of the assay. However, values for the patient samples will not be affected.
10. Never pipet by mouth and avoid contact of reagents and specimens with skin and mucous membranes.
11. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens 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* containing 0.5 M H₂SO₄. It may cause skin irritation and burns.
18. Some reagents contain Proclin 300, BND and/or MIT as preservatives. In case of contact with eyes or skin, flush immediately with water.
19. TMB substrate has an irritant effect on skin and mucosa. In case of possible contact, wash eyes with an abundant volume of water and skin with soap and abundant water. Wash contaminated objects before reusing them. If inhaled, take the person to open air.
20. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guideline or regulation.
21. For information on hazardous substances included in the kit please refer to Safety Data Sheets. Safety Data Sheets for this product are available upon request directly from DRG.

4 REAGENTS

4.1 Reagents provided

1. **Microtiterwells**, 12 x 8 (break apart) strips, 96 wells;
Wells coated with anti-LH antibody (monoclonal).
2. **Standard (Standard 0-5)**, 6 vials, (lyophilized), 0.5 mL;
Concentrations: 0, 10; 20; 40; 100; 200 mIU/mL
The standards are calibrated against WHO 1st International Standard for LH IRP (80/552);
See "Reagent Preparation".
Contain non-mercury preservative.
3. **Enzyme Conjugate**, 1 vial, 11 mL, ready to use,
Anti-LH antibody conjugated to horseradish peroxidase;
Contains non-mercury preservative.
4. **Substrate Solution**, 1 vial, 14 mL, ready to use,
Tetramethylbenzidine (TMB).
5. **Stop Solution**, 1 vial, 14 mL, ready to use,
contains 0.5 M H₂SO₄,
Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.

4.2 Materials required but not provided

- A microtiter plate calibrated reader (450 ± 10 nm) (e.g. the DRG Instruments Microtiter Plate Reader).
- Calibrated variable precision micropipettes.
- Absorbent paper.
- Distilled or deionized water
- Timer
- Semi logarithmic graph paper or software for data reduction

4.3 Storage Conditions

When stored at 2 °C to 8 °C unopened reagents will retain reactivity until expiration date. Do not use reagents beyond this date.

Opened reagents must be stored at 2 °C to 8 °C. Microtiter wells must be stored at 2 °C to 8 °C. Once the foil bag has been opened, care should be taken to close it tightly again.

Opened kits retain activity for six weeks if stored as described above.

4.4 Reagent Preparation

Bring all reagents and required number of strips to room temperature prior to use.

Standards

Reconstitute the lyophilized contents of each standard vial with 0.5 mL deionized water and let stand for 10 minutes in minimum. Mix several times before use.

Note: *After first use the reconstituted standards should be apportioned and stored immediately at -20 °C.*

4.5 Disposal of the Kit

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

4.6 Damaged Test Kits

In case of any severe damage to the test kit or components, DRG has to be informed in writing, at the 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 SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Urine has to be used in this assay.

ATTENTION! This kit is for use with samples without additives only

5.1 Specimen Collection

It is recommended to collect the first morning urine (after fasting).

Urine specimens may be collected in plastic or glass containers. No centrifugation is required prior to testing. Turbid samples may be run without special preparation.

5.2 Specimen Storage and Preparation

Specimens should be capped and may be stored for up to 48 hours at 2 °C to 8 °C prior to assaying.

Specimens held for a longer time should be frozen only once at -20 °C prior to assay. Thawed samples should be inverted several times prior to testing.

6 ASSAY PROCEDURE

6.1 General Remarks

- All reagents and specimens must be allowed to come to room temperature 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.

6.2 Test Procedure (Quantitative Method)

Each run must include a standard curve.

1. Secure the desired number of Microtiter wells in the frame holder.
2. Dispense **25 µL** of each **Standard, control** and **sample** with new disposable tips into appropriate wells.
3. Dispense **100 µL Enzyme Conjugate** into each well.
Thoroughly mix for 10 seconds. It is important to have a complete mixing in this step.
4. Incubate for **30 minutes** at room temperature.
5. Briskly shake out the contents of the wells.
Rinse the wells **5 times** with distilled water (300 µL per well). Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.

Important note:

The sensitivity and precision of this assay is markedly influenced by the correct performance of the washing procedure!

6. Add **100 µL** of **Substrate Solution** to each well.
7. Incubate for **10 minutes** at room temperature.
8. Stop the enzymatic reaction by adding **50 µL** of **Stop Solution** to each well.
9. Determine the absorbance (OD) of each well at **450 ± 10 nm** with a microtiter plate reader.
It is recommended that the wells be read **within 10 minutes** after adding the *Stop Solution*.

6.3 Test Procedure (Qualitative Method)

This procedure is suitable for the detection of the midcycle LH surge in urine. Patient samples have to be run with the Reference Standards 20 mIU/mL and 40 mIU/mL. The assay method is exactly the same as for the quantitative method, but step 8 and 9 are omitted.

6.4 Calculation of Results (Quantitative)

1. Calculate the average absorbance values for each set of standards, controls and patient samples.
2. Using semi-logarithmic graph paper, construct a standard curve by plotting the mean absorbance obtained from each standard against its concentration with absorbance value on the vertical (Y) axis and concentration on the horizontal (X) axis.
3. Using the mean absorbance value for each sample determine the corresponding concentration from the standard curve.
4. Automated method: The results in the Instructions for Use have been calculated automatically using a 4 Parameter curve fit. (4 Parameter Rodbard or 4 Parameter Marquardt are the preferred methods.) 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 or reported as > 200 mIU/mL. For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

6.4.1 Example of Typical Standard Curve

The following data is for demonstration only and **cannot** be used in place of data generations at the time of assay.

Standard	Optical Units (450 nm)
Standard 0 (0 mIU/mL)	0.02
Standard 1 (10 mIU/mL)	0.10
Standard 2 (20 mIU/mL)	0.18
Standard 3 (40 mIU/mL)	0.34
Standard 4 (100 mIU/mL)	0.85
Standard 5 (200 mIU/mL)	1.80

6.5 Qualitative Results

For a qualitative analysis of LH level, the specimen is compared with the color of the 20 and 40 mIU/mL Reference Standards.

≤ 20 mIU/mL LH:

if the blue color is less intense than or equal to the color of the 20 mIU/mL Reference Standard

> 20 and < 40 mIU/mL LH:

if the blue color is more intense than the color of the 20 mIU/mL Reference Standard, but less intense than the color of the 40 mIU/mL Reference Standard

≥ 40 mIU/mL LH:

if the blue color is equal or more intense than the color of the 40 mIU/mL Reference Standard.

7 EXPECTED NORMAL VALUES

It is strongly recommended that each laboratory should determine its own normal and abnormal values.

Using the DRG LH (Urine) ELISA the following values are observed:

	Age	Number	LH (mIU/mL) Mean	LH (mIU/mL) Range
Male (pre-pubescent)	<10	10	1.1	0 to 2.9
Male (normal adult)	18-65	30	4.6	1.0 to 13.8
Female (pre-pubescent)	<10	8	0.8	0 to 1.5
Female normal adult follicular and luteal phase LH surge	20-36	47	14.8	0.6 to 96.2 < 20 40 to 200
Female (post-menopausal)	46-60	23	36.3	8.4 to 102.0

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

8 QUALITY CONTROL

Good laboratory practice requires that controls be run with each calibration curve. A statistically significant number of controls should be assayed to establish mean values and acceptable ranges to assure proper performance.

It is recommended to use control samples 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 QC-Laboratory are stated in the QC certificate added to 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.

It is also recommended to make use of national or international Quality Assessment programs in order to ensure the accuracy 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; 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 DRG directly.

9 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

9.1 Assay Dynamic Range

The range of the assay is between 2 mIU/mL – 200 mIU/mL.

9.2 Specificity of Antibodies (Cross Reactivity)

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

Hormone Tested	Concentration	Produced Color Intensity Urine Equivalent to LH in (mIU/mL)
hCG (WHO 1st IRP75/537)	200 mIU/mL	5.2
TSH (WHO 2nd IRP 80/558)	62 μ IU/mL	3.0
FSH (WHO 1st IRP 68/40)	200 mIU/mL	2.5

NOTE: Pregnancy results in elevated levels of hCG, the use of the LH (Urine) ELISA test is not recommended during pregnancy or immediately post-partum.

9.3 Sensitivity

The analytical sensitivity of the DRG ELISA was calculated by adding 2 standard deviations to the mean of 20 replicate analyses of the Zero Standard (S0) and was found to be 2 mIU/mL.

9.4 Reproducibility

9.4.1 Intra Assay

The within assay variability is shown below:

Sample	n	Mean (mIU/mL)	CV (%)
1	18	4.9	0.7
2	18	23.6	5.8
3	18	57.9	6.9

9.4.2 Inter Assay

The between assay variability is shown below:

Sample	n	Mean (mIU/mL)	CV (%)
1	39	5.1	9.4
2	24	23.9	7.2
3	24	57.7	5.7

9.5 Recovery

Various patient samples of known LH levels were mixed and assayed in duplicate. The average recovery was 102.8%.

Expected Concentration (mIU/mL)	Observed Concentration (mIU/mL)	%Recovery
5.98	5.09	101.2
23.65	25.31	107.0
35.64	36.43	102.2
46.95	51.10	108.8
72.32	69.37	95.9
91.78	86.61	94.4

9.6 Linearity

Two patient samples were serially diluted with Zero Standard in a linearity study. The average recovery was 101.6%.

Patient Number	Dilution	Expected Conc. (mIU/mL)	Observed Conc. (mIU/mL)	%Recovery
1	Undiluted	105.47	105.47	100.0
	1:2	52.74	54.72	103.8
	1:4	26.37	28.95	109.7
	1:8	3.19	13.88	105.2
	1:16	6.60	6.98	105.8
2	Undiluted	78.08	78.08	100.0
	1:2	39.04	39.17	100.3
	1:4	19.52	18.70	95.8
	1:8	9.76	0.34	95.7
	1:16	4.88	4.97	101.8
	1:32	2.44	2.34	95.9

10 LIMITATIONS OF USE

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 good laboratory practice.

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

10.1 Drug Interferences

Until today no substances (drugs) are known to us, which have an influence to the measurement of LH in a sample.

10.2 High-Dose-Hook Effect

No hook effect was observed in this test up to 4,000 mIU/mL of LH.

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, 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. 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 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.

12 REFERENCES / LITERATURE

1. Harris, G.W. and Naftolin, F., The Hypothalamus and Control of Ovulation, *Brit. Med. Bulletin.*, 26, 1-9 (1970).
2. Knobil, E., The Neuroendocrine Control of the Menstrual Cycle, *Rec. Prog. Horm Res.*, 36, 52-88 (1980).
3. Jeffcoate, S.L., *Clinics in Endocrinol. Metab.*, 4, 521-543 (1975).
4. Whitely, R.J., Keutmann, H.T. and Ryan, R.J., *Endocrinology*, 102, 1874 (1978).
5. Pierce, J.G. and Parsons, T.F., Glycoprotein hormones: Structure and Function, *Annual Rev. Biochem.*, 50, 465-495 (1981).
6. Bardin, C.W. and Paulsen, C.A., "The Testes" in *Textbook of Endocrinology*, (ed.) R.H. Williams M.D., W.B. Saunders Co., (1981).
7. Shome, B. and Parlow, A.F., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 39, 199-202 (1974).
8. Shome, B. and Parlow, A.F., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 39, 203-205 (1974).
9. Ross, G.T., VandeWeile, R.L., and Frantz, A.G. Chapter 7 in "The Ovaries and the Breasts" in "Textbook of Endocrinology" (R. H. Williams, Ed.), W.B. Saunders Co. (1981).
10. Marshall, J.C., *Clinics in Endocrinal Metab.*, 4, 545-567 (1975).
11. Acosta, A.A.M.D. and Wright, G.L., *Journal of Clinical Immunoassays*, 6, 41 (1983).
12. Brown, J. Wood (eds.), Churchill Livingstone Co., New York, 7-42 (1980).
13. Yen, S.S.C., Vela, P. and Rankin, J., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 30, 434-442 (1970).
14. Cohen, K. L., *Metabolism*, 26, 1165-1177 (1977).
15. Engvall, E., *Methods in Endocrinology*, Volume 70, Van Vunakis, H. and Langone, J.J. (eds.), Academic Press, New York, 419-492 (1980).
16. Uotila, M. Ruoslahti, E. and Engvall, E., *J. Immunol. Methods*, 42, 11-15 (1981).

1 EINLEITUNG

Der **DRG LH (Urine) ELISA** wird zur quantitativen Bestimmung von LH in Urin eingesetzt.

Der Test dient dem Nachweis des plötzlichen Konzentrationsanstiegs von LH in der Zyklusmitte (ovulatorischer Peak) zum exakten Timing des Eisprungs.

Nur für In-vitro Diagnostik.

Klinische Bedeutung

Luteinisierendes Hormon (LH) ist ein Glykoprotein, das unter der Kontrolle des im Hypothalamus gebildeten Liberins (Gonadotropin-Releasing-Hormon, Gn-RH) synthetisiert und ausgeschüttet wird. Wie FSH, TSH und hCG besteht LH aus einer Alpha- und einer Beta-Untereinheit. Während die Aminosäuresequenzen der Alpha-Untereinheiten nahezu identisch sind, sind die Beta-Untereinheiten hormonspezifisch. Sie determinieren die immunologischen Eigenschaften und die Spezifität der Wirkungen auf die Zielorgane.

Bei Frauen sind die Hormone LH und FSH verantwortlich für die zyklischen Veränderungen der Ovarien während des Menstruationszyklus. Der plötzliche Konzentrationsanstieg von LH in der Zyklusmitte (ovulatorischer Peak) bewirkt den Eisprung. Die Bestimmung von LH und FSH dient bei Frauen der Diagnose von primärer und sekundärer Amenorrhöe und/oder von Menstruationszyklen ohne Eisprung. Erhöhte LH- und FSH-Werte signalisieren einen primären Defekt der Ovarien, der im Allgemeinen mit primärer Amenorrhöe verbunden ist.

Bei Männern stimuliert LH zusammen mit FSH die Spermio-genese und die Hormonproduktion in den Testes. Hohe LH-Werte weisen auf eine primäre Hodenfunktionsstörung hin.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Bestimmung von LH sowie von FSH in einer Vielzahl von klinischen Fällen angewendet wird, u.a. bei Verdacht auf Hypogonadismus, zum exakten Timing (LH-Peak-Suche zur Bestimmung des Eisprungs) im Rahmen der weiblichen Sterilitätsbehandlung und zur Überwachung der klinischen Verabreichung von Gonadotropinen.

2 TESTPRINZIP

Der DRG LH (Urine) ELISA ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay, der auf der Sandwichtechnik basiert.

Die Wells der Mikrotiterplatten sind mit einem monoklonalen Antikörper beschichtet, der gegen eine definierte Antikörper-Bindungsstelle des LH- β -Moleküls gerichtet ist.

Die Proben werden in die beschichteten Wells gegeben und mit einem Enzymkonjugat inkubiert. Das Konjugat enthält einen anti- LH -Antikörper, der mit Meerrettichperoxidase konjugiert ist. Es wird ein Sandwichkomplex gebildet.

Das nicht gebundene Konjugat wird durch Waschen der Wells entfernt. Anschließend wird die Substratlösung zugegeben und die Farbentwicklung nach einer definierten Zeit gestoppt. Die Intensität der gebildeten Farbe ist proportional der LH-Konzentration in der Probe. Die Extinktion wird bei 450 nm mit einem Mikrotiterplattenleser gemessen.

3 VORSICHTSMAßNAHMEN

- Dieser Kit ist nur zum in vitro diagnostischen Gebrauch geeignet.
- Nur die gültige, im Testkit enthaltene, Arbeitsanleitung verwenden.
- Informationen zu im Kit enthaltenen gefährlichen Substanzen entnehmen Sie bitte dem Material Sicherheitsdatenblatt.
- 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. Jedoch sollten alle Bestandteile im Umgang und bei der Entsorgung wie mögliche Gefahrenstoffe betrachtet werden.
- Der Kontakt mit der *Stop Solution* sollte vermieden werden, da sie 0.5 M H₂SO₄ enthält. Schwefelsäure kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.
- Nicht mit dem Mund pipettieren und den Kontakt von Kitbestandteilen und Proben mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
- In den Bereichen, in denen Proben oder Kitbestandteile verwendet werden, nicht rauchen, essen oder Kosmetika verwenden.
- Beim Umgang mit Proben oder Reagenzien Einweg-Latexhandschuhe tragen. Die Verunreinigung von Reagenzien oder Proben mit Mikroben kann zu falschen Ergebnissen führen.
- Der Gebrauch sollte gemäß der Vorschriften einer entsprechenden nationalen Gefahrenstoff-Sicherheitsrichtlinie erfolgen.
- Reagenzien nicht nach dem auf dem Kit-Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Alle im Kit-Protokoll angegebenen Mengen müssen genau eingehalten werden. Optimale Ergebnisse können nur durch Verwendung kalibrierter Pipetten und Mikrotiterplatten-Lesegeräte erreicht werden.
- Komponenten von Kits mit unterschiedlichen Lotnummern nicht untereinander vertauschen. 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 Bindungscharakteristik der Platten leicht unterschiedlich ausfällt.
- Chemikalien und zubereitete oder bereits benutzte Reagenzien müssen gemäß den nationalen Gefahrenstoffvorschriften wie gefährlicher Abfall behandelt werden.
- Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage direkt von der Firma DRG Instruments GmbH erhältlich.

4 BESTANDTEILE DES KITS

4.1 Kitinhalt

1. **Microtiterwells**, 96 Wells, 12 x 8 Wells (einzeln brechbar);
Mit anti- LH-Antikörper (monoklonal) beschichtet.
2. **Standard (Standard 0-5)**, 6 Fläschchen, (lyophilisiert), je 0,5 mL;
Konzentrationen: 0, 10; 20; 40; 100; 200 mIU/mL
Die Standards sind kalibriert gegen den 1. Internationalen WHO-Standard für LH IRP (80/552).
Siehe „Vorbereitung der Reagenzien“.
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
3. **Enzyme Conjugate** (Enzymkonjugat), 1 Fläschchen, 11 mL, gebrauchsfertig;
Anti- LH -Antikörper mit Meerrettichperoxidase konjugiert.
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
4. **Substrate Solution** (Substratlösung), 1 Fläschchen, 14 mL, gebrauchsfertig;
Substratlösung TMB.
5. **Stop Solution** (Stopplösung), 1 Fläschchen, 14 mL, gebrauchsfertig;
enthält 0,5M H₂SO₄,
Kontakt mit der Stopplösung vermeiden! Kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.

4.2 Erforderliche aber nicht enthaltene Geräte und Materialien

- Kalibriertes Mikrotiterplattenlesegerät mit 450 ± 10 nm Filter), (z.B. das DRG Instruments Mikrotiterplattenlesegerät)
- Kalibrierte variable Präzisions-Mikropipette
- Saugfähiges Papier
- Aqua dest.

4.3 Lagerung und Haltbarkeit des Kits

Die ungeöffneten Reagenzien behalten bei Lagerung um 2 °C bis 8 °C ihre Reaktivität bis zum Verfallsdatum. Nach dem Verfallsdatum die Reagenzien nicht mehr verwenden.

Nach dem Öffnen sollten alle Reagenzien bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.

Die Mikrotiterwells sollten bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Der einmal geöffnete Folienbeutel sollte stets sehr sorgfältig wieder verschlossen werden. Unter den beschriebenen Lagerbedingungen behalten geöffnete Kits sechs Wochen ihre Reaktivität.

4.4 Vorbereitung der Reagenzien

Alle Reagenzien sowie die benötigte Anzahl von Wells sollen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht werden.

Standards

Rekonstituieren Sie den lyophilisierten Inhalt der Standardfläschchen mit 0,5 mL destilliertem Wasser und lassen Sie die Fläschchen mindestens 10 Minuten ruhen. Vor Gebrauch mehrmals vorsichtig schütteln

Achtung: Nach dem ersten Gebrauch müssen die rekonstituierten Standards portioniert und sofort bei -20 °C eingefroren werden.

4.5 Entsorgung des Kits

Die Entsorgung des Kits muss gemäß den nationalen gesetzlichen Vorschriften erfolgen. Spezielle Informationen für dieses Produkt finden Sie im Material Sicherheitsdatenblatt, Kapitel 13.

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 PROBENVORBEREITUNG

Urin wird in diesem Test als Probenmaterial eingesetzt.

Achtung: Proben, die Natriumazid enthalten, sollten nicht verwendet werden.

5.1 Probenentnahme

Urinproben in sauberen Gefäßen ohne Konservierungsmittel sammeln. Für den Test partikelfreien Urin, nach Möglichkeit Morgenurin (nüchtern) verwenden.

Aufgrund der Variabilität der hLH-Sekretion ist der Zeitpunkt der Probenentnahme wichtig. Der plötzliche hLH-Anstieg in der Zyklusmitte

- a) zwischen verschiedenen Individuen und
- b) zwischen den einzelnen Zyklen eines Individuums

unterliegt signifikanten Schwankungen. Jedes Labor sollte daher einen eigenen Zeitplan für die Probenentnahme entwickeln.

5.2 Probenaufbewahrung

Proben sollten stets gut verschlossen sein und können vor Testbeginn bis zu 48 Stunden bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.

Für eine längere Aufbewahrung sollten die Proben eingefroren bei -20 °C bis zum Testbeginn gelagert werden. Nur einmal einfrieren. Aufgetaute Proben sollten vor Testbeginn vorsichtig durchmischt werden, ohne Schaumbildung.

6 TESTDURCHFÜHRUNG

6.1 Allgemeine Hinweise

- Alle Reagenzien und Proben müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht und gut durchmischt 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 eine neue Plastikspitze verwenden, 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 Wells 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.

6.2 Testdurchführung (Quantitativ)

Jeder Lauf muss eine Standardkurve beinhalten.

1. Die benötigte Anzahl Wells in der Halterung befestigen.
2. **Je 25 µL Standard, Control und Proben mit neuen Plastikspitzen** in die entsprechenden Wells geben.
3. **100 µL Enzyme Conjugate** in jedes Well geben.
Für 10 Sekunden gut schütteln. Es ist sehr wichtig, in diesem Schritt eine komplette Durchmischung zu erreichen.
4. **30 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Den Inhalt der Wells kräftig ausschütteln. Wells **5-mal** mit destilliertem Wasser (300 µL) waschen. Verbleibende Flüssigkeit durch Ausklopfen der Wells auf saugfähigem Papier entfernen.
Achtung: Die Sensitivität und Präzision dieses Assays wird erheblich beeinflusst von der korrekten Durchführung des Waschschrittes!
6. **100 µL Substrate Solution** in jedes Well geben.
7. **10 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
8. Die enzymatische Reaktion durch Zugabe von **50 µL Stop Solution** in jedes Well abstoppen.
9. Die Optische Dichte bei **450 ±10 nm** mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät innerhalb von **10 Minuten** nach Zugabe der **Stop Solution** bestimmen.

6.3 Testdurchführung (Qualitativ)

Zur Bestimmung des ovulatorischen LH-Peaks werden Urinproben und folgende Standards verwendet:
20 mIU/mL und 40 mIU/mL.

Testdurchführung wie unter 6.2. „Testdurchführung (Quantitativ)“ beschrieben. Schritt 8 und 9 entfallen hier.

6.4 Ergebnisermittlung (Quantitativ)

1. Die durchschnittlichen Werte der Optischen Dichte (OD) für jedes Set von Standards, Controls und Patientenproben bestimmen.
2. Eine Standardkurve ermitteln durch Auftragen der mittleren Optischen Dichte jedes Standards gegen die Konzentration, wobei der OD-Wert auf der vertikalen (Y) Achse und die Konzentration auf der horizontalen (X) Achse eingetragen wird.
3. Unter Verwendung der mittleren OD wird für jede Probe die entsprechende Konzentration aus der Standardkurve ermittelt.
4. Automatische Methode: Die in der Gebrauchsanweisung angegebenen Werte wurden automatisch mit Hilfe der 4 Parameter-Rodbard oder 4 Parameter-Marquardt (sind die bevorzugten Methoden.) Andere Auswertungsfunktionen können leicht abweichende Werte ergeben.
5. Die Konzentration der Proben kann direkt von der Standardkurve abgelesen werden. Proben, die eine höhere Konzentration als die des höchsten Standards enthalten, müssen verdünnt werden. Dieser Verdünnungsfaktor muss bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden.

6.4.1 Beispiel für eine Standardkurve

Nachfolgend wird ein typisches Beispiel für eine Standardkurve mit dem DRG ELISA gezeigt. Diese Werte sollten **nicht** zur Berechnung von Patientendaten verwendet werden.

Standard	Optische Dichte (450 nm)
Standard 0 (0 mIU/mL)	0,02
Standard 1 (10 mIU/mL)	0,10
Standard 2 (20 mIU/mL)	0,18
Standard 3 (40 mIU/mL)	0,34
Standard 4 (100 mIU/mL)	0,85
Standard 5 (200 mIU/mL)	1,80

6.5 Ergebnisermittlung (Qualitativ)

Für die qualitative Auswertung wird die Farbintensität der Probe mit der Farbintensität der Standards 20 und 40 mIU/mL verglichen.

≤ 20 mIU/mL LH:

Die Intensität der Blaufärbung ist schwächer oder gleich der Farbintensität des 20 mIU/mL Standards.

> 20 und < 40 mIU/mL LH:

Die Intensität der Blaufärbung ist stärker als die Farbintensität des 20 mIU/mL Standards aber schwächer als die Farbintensität des 40 mIU/mL Standards.

≥ 40 mIU/mL LH:

Die Intensität der Blaufärbung ist gleich oder stärker der Farbintensität des 40 mIU/mL Standards.

7 ERWARTETE WERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen normalen und abnormalen Werte ermittelt.

Mit dem DRG LH (Urine) ELISA ergaben sich folgende Werte:

	Alter	N	LH (mIU/mL) Mittelwert	LH (mIU/mL) Bereich
Jungen (vorpupertär)	<10	10	1,1	0 - 2,9
Männer (normale Erwachsene)	18-65	30	4,6	1,0 - 13,8
Mädchen (vorpupertär)	<10	8	0,8	0 - 1,5
Frauen normale Erwachsene Follikular- und Lutealphase LH-Anstieg	20-36	47	14,8	0,6 - 96,2 < 20 40 - 200
Frauen (post-menopausal)	46-60	23	36,3	8,4 - 102,0

8 QUALITÄTS-KONTROLLE

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 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 wird ebenfalls empfohlen, an nationalen oder internationalen Qualitätssicherungs-Programmen teilzunehmen, um die Genauigkeit der Ergebnisse zu sichern.

Es sollten geeignete statistische Methoden zur Analyse von Kontroll-Werten 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, 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 ASSAY CHARACTERISTIKA

9.1 Messbereich

Der Messbereich des Testes liegt zwischen 2 – 200 mIU/mL.

9.2 Spezifität der Antikörper (Kreuzreaktivität)

Die Daten entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Arbeitsanleitung.

9.3 Sensitivität

Die analytische Sensitivität, definiert als Mittelwert plus der zweifachen Standardabweichung des *Standards 0* (n = 20), beträgt 2 mIU/mL.

Die Daten zu:

9.4 Reproduzierbarkeit (Präzision)

9.5 Wiederfindung

9.6 Linearität

entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Arbeitsanleitung.

10 GRENZEN DES TESTS

Jede unsachgemäße Behandlung von Proben oder Modifikationen dieses Tests können die Ergebnisse beeinflussen.

10.1 Beeinflussung durch Medikamente

Uns sind bislang keine Stoffe (Medikamente) bekannt geworden, deren Einnahme die Messung des LH-Gehaltes der Probe beeinflussen würde.

10.2 High-Dose-Hook Effekt

Ein Hook Effekt tritt bei Proben mit bis zu 4000 mIU/mL LH nicht auf.

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

Angaben zu den Referenzen entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Arbeitsanleitung.

SYMBOLS USED

Symbol	English	Deutsch	Français	Español	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	Usage Diagnostic in vitro	Para uso 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 Cat.
	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
	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
	Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
<i>Distributed by</i>	Distributor	Vertreiber	Distributeur	Distribuidor	Distributore
<i>Content</i>	Content	Inhalt	Contenu	Contenido	Contenuto
<i>Volume/No.</i>	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Numéro	Volumen/Número	Volume/Quantità
<i>Microtiterwells</i>	Microtiterwells	Mikrotiterwells	Plaques de micro-titration	Placas multipocillo	Micropozzetti
<i>Antiserum</i>	Antiserum	Antiserum	Antisérum	Antisero	Antisiero
<i>Enzyme Conjugate</i>	Enzyme Conjugate	Enzymkonjugat	Conjugué enzymatique	Conjugado enzimático	Tracciante enzimatico
<i>Enzyme Complex</i>	Enzyme Complex	Enzymkomplex	Complexe enzymatique	Complejo enzimático	Complesso enzimatico
<i>Substrate Solution</i>	Substrate Solution	Substratlösung	Solution substrat	Solución de sustrato	Soluzione di substrato
<i>Stop Solution</i>	Stop Solution	Stopplösung	Solution d'arrêt	Solución de parada	Soluzione d'arresto
<i>Zero Standard</i>	Zero Standard	Nullstandard	Zero Standard	Estándar cero	Standard zero
<i>Standard</i>	Standard	Standard	Standard	Estándar	Standard
<i>Control</i>	Control	Kontrolle	Contrôle	Control	Controllo
<i>Assay Buffer</i>	Assay Buffer	Assaypuffer	Tampon d'essai	Tampón de ensayo	Tampone del test
<i>Wash Solution</i>	Wash Solution	Waschlösung	Solution de lavage	Solución de lavado	Soluzione di lavaggio
<i>1N NaOH</i>	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH (idrossido di sodio 1N)
<i>1 N HCl</i>	1 N HCl	1 N HCl	1N HCl	1 N HCl	
<i>Sample Diluent</i>	Sample Diluent	Probenverdünnungsmedium	Solution pour dilution de l'échantillon	Solución para dilución de la muestra	Diluyente dei campioni
<i>Conjugate Diluent</i>	Conjugate Diluent	Konjugatverdünnungsmedium	Solution pour dilution du conjugué	Solución para dilución del conjugado	Diluyente del tracciante