

**Arbeitsanleitung/Manual**

*Nur für den Gebrauch durch Fachpersonal /  
For professional use only*

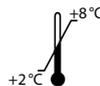
# **IDK<sup>®</sup> Oncostatin M**

***Zur in-vitro-Bestimmung von Oncostatin M  
in Serum, Plasma und Stuhl***

***For the in vitro determination of oncostatin M  
in serum, plasma, and stool***

Gültig ab / Valid from 2024-08-21

**REF K 6926**



**IVD CE**



**Immundiagnostik AG**, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: [info@immundiagnostik.com](mailto:info@immundiagnostik.com)

[www.immundiagnostik.com](http://www.immundiagnostik.com)

## **Sicherheitshinweise**

Der Assay ist ausschließlich nach der dem Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchzuführen. Wichtige Sicherheitshinweise zu diesem Produkt sind dem Kapitel 12 zu entnehmen.

# Inhalt

<b>1. VERWENDUNGSZWECK</b>	<b>2</b>
<b>2. EINLEITUNG</b>	<b>2</b>
<b>3. INHALT DER TESTPACKUNG</b>	<b>3</b>
<b>4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL</b>	<b>3</b>
<b>5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN</b>	<b>4</b>
<b>6. PROBENVORBEREITUNG</b>	<b>6</b>
<i>Probenverdünnung</i>	7
<i>Serum- und Plasmaproben</i>	7
<b>7. TESTDURCHFÜHRUNG</b>	<b>7</b>
<i>Testprinzip</i>	7
<i>Pipettierschema</i>	8
<b>8. ERGEBNISSE</b>	<b>9</b>
<b>9. EINSCHRÄNKUNGEN</b>	<b>10</b>
<b>10. QUALITÄTSKONTROLLE</b>	<b>10</b>
<i>Referenzwerte</i>	11
<b>11. TESTCHARAKTERISTIKA</b>	<b>11</b>
<i>Genauigkeit – Präzision</i>	11
<i>Linearität</i>	11
<i>Analytische Sensitivität</i>	12
<b>12. VORSICHTSMASSNAHMEN</b>	<b>12</b>
<b>13. TECHNISCHE MERKMALE</b>	<b>13</b>
<b>14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST</b>	<b>14</b>
<b>15. ENTSORGUNG</b>	<b>14</b>
<b>16. LITERATUR</b>	<b>14</b>
<b>17. SYMBOLE</b>	<b>16</b>

## 1. VERWENDUNGSZWECK

IDK® Oncostatin M ist ein Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) für die quantitative Bestimmung von Oncostatin M aus Serum, Plasma und Stuhl. Das Produkt ist ein *in-vitro*-Diagnostikum und für den Gebrauch durch Fachpersonal geeignet. Die Abarbeitung kann manuell erfolgen.

## 2. EINLEITUNG

Oncostatin M (OSM) ist ein Zytokin aus der IL-6-Familie, das an zahlreichen homöostatischen und pathophysiologischen Prozessen beteiligt ist. OSM unterstützt z. B. die Reparatur und Umgestaltung von Geweben, reguliert aber auch das Wachstum von verschiedenen Krebszellen. Überproduktion von OSM kann zu Entzündungen in Haut und Lunge oder zu Arteriosklerose führen [1].

OSM scheint auch an der Aufrechterhaltung von Darmentzündungen beteiligt zu sein, da OSM und sein Rezeptor OSMR vermehrt in der Darmmukosa von Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED) exprimiert werden und vor allem die spätere Entzündungsantwort beeinflussen [2]. Eine Studie von 2020 hat gezeigt, dass eine Kombination von OSM mit dem etablierten Entzündungsmarker Calprotectin vorteilhaft für die CED-Diagnose ist [3].

Die Behandlung von CED (z. B. Morbus Crohn, Colitis ulcerosa), rheumatischen Erkrankungen oder Psoriasis erfolgt immer häufiger mit anti-TNF $\alpha$ -Antikörpern, welche direkt in die zugrundeliegende Entzündungsreaktion eingreifen. Diese Behandlung wirkt jedoch bei ca. 40% der Patienten nicht (primäres Therapieversagen) oder verliert ihre Wirkung im Lauf der Zeit (sekundäres Therapieversagen). Diverse Studien haben einen Zusammenhang zwischen erhöhten OSM Konzentrationen und einem reduzierten Behandlungserfolg mit anti-TNF $\alpha$ -Antikörpern gezeigt [4, 5, 6, 7]. Die Menge an OSM im Darm kann somit als prädiktiver Biomarker für primäres Therapieversagen von TNF $\alpha$ -Inhibitoren bei CED-Patienten genutzt werden.

Mit dem IDK® Oncostatin M ELISA kann der Spiegel an OSM in Serum, Plasma und Stuhlproben bestimmt werden. Die Resultate helfen dem behandelnden Arzt dabei, die Therapie zu planen und optimieren.

### 3. INHALT DER TESTPACKUNG

Art.-Nr.	Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge
K6926	PLATE	Mikrotiterplatte, vorbeschichtet	12 x 8 Vertiefungen
K0001.C.100	WASHBUF	Waschpufferkonzentrat, 10x	1 x 100 ml
K6926	AB	Detektionsantikörperkonzentrat, (2. Antikörper, Ziege-anti-OSM, biotinyliert) lyophilisiert	1 vial
K6926	CONJ	Konjugatkonzentrat, peroxidase markiert	1 vial
K6926	STD	Standardkonzentrat, lyophilisiert (Konzentration der Spezifikation entnehmen)	4 x 1 vial
K6926	CTRL 1 CTRL 2	Kontrolle 1/2, lyophilisiert (Rekonstitution und Bereich der Spezifikation entnehmen)	je 4 vials
K6926	DIL	Verdünnungspuffer, gebrauchsfertig	1 x 100 ml
K0002.15	SUB	Substrat (Tetramethylbenzidin), gebrauchsfertig	1 x 15 ml
K0003.15	STOP	Stopplösung, gebrauchsfertig	1 x 15 ml
K 6999.C.100	IDK Extract®	Extraktionspufferkonzentrat <b>IDK Extract®</b> , 2,5 x	1 x 100 ml

Für Nachbestellungen von Einzelkomponenten verwenden Sie als Bestellnummer die Artikelnummer gefolgt von der Bezeichnung.

### 4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Reinstwasser\*
- Präzisionspipetten und Pipettenspitzen für den Einmalgebrauch mit variablen Volumina von 10–1 000 µl

- Folie zum Abkleben der Mikrotiterplatte
- Mikrotiterplattenschüttler
- Multikanal- bzw. Multipipette
- Vortex-Mixer
- Laborübliche Glas- oder Plastikröhrchen (Einmalartikel)
- Mikrotiterplattenphotometer (benötigte Filter siehe Kapitel 7)

\* Immundiagnostik AG empfiehlt die Verwendung von Reinstwasser nach ISO 3696. Es handelt sich dabei um Wasser des Typs 1, welches frei von ungelösten und kolloidalen Ionen und organischen Molekülen ist (frei von Partikeln > 0,2 µm) mit einer elektrischen Leitfähigkeit von 0,055 µS/cm bei 25 °C (≥ 18,2 MΩ cm).

## 5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- Bitte achten Sie bei mehrfachem Einsatz des Kits darauf, dass die Reagenzien wie auf dem Etikett angegeben gelagert und **nur die für den jeweiligen Ansatz benötigten Reagenzienmengen frisch angesetzt werden**. Der Kit kann so bis zu 4 x je nach Probenaufkommen bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden.
- Reagenzien mit einem **Volumen kleiner 100 µl** sollten vor Gebrauch kurz anzenrifugiert werden, um Volumenverluste zu vermeiden.
- **Vorbereitung des Waschpuffers:** Das **Waschpufferkonzentrat (WASHBUF)** muss vor Gebrauch **1:10** in Reinstwasser verdünnt werden (100 ml WASHBUF + 900 ml Reinstwasser), gut mischen. Aufgrund des hohen Salzgehalts im Konzentrat kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich bei Raumtemperatur bzw. im Wasserbad bei 37 °C auf. Das **WASHBUF** kann bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum aufbewahrt werden. Der **Waschpuffer** (1:10 verdünntes WASHBUF) ist **1 Monat bei 2–8 °C** in einem geschlossenen Gefäß haltbar.
- **Vorbereitung des Extraktionspuffers:** Das **Extraktionspufferkonzentrat IDK Extract®** muss vor Gebrauch **1:2,5 in Reinstwasser** verdünnt werden (100 ml **IDK Extract®** + 150 ml Reinstwasser), gut mischen. Aufgrund des hohen Salzgehalts im Konzentrat kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich im Wasserbad bei 37 °C auf. Das **IDK Extract®** kann bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum aufbewahrt werden. Der **Extraktionspuffer** (1:2,5 verdünntes **IDK Extract®**) ist **4 Monate bei 2–8 °C** in einem geschlossenen Gefäß haltbar.

- Das **lyophilisierte Standardkonzentrat (STD)** ist bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Vor Gebrauch wird das STD mit **500 µl Verdünnungspuffer (DIL)** rekonstituiert und kurz geschwenkt, um eine vollständige Rekonstitution zu gewährleisten. Es wird zum Lösen 10 Minuten stehen gelassen und anschließend gründlich gemischt. **Standardkonzentrat (rekonstituiertes STD) kann 8 Wochen bei 2–8 °C gelagert werden. Erstellen Sie durch serielle Zweifachverdünnung des Standardkonzentrats (rekonstituiertes STD) in DIL eine Fünf-Punkte-Standardkurve;** verwenden Sie die erste Verdünnung als höchsten Standard und den **Verdünnungspuffer (DIL) als Leerwert.**
- **Die lyophilisierten Kontrollen** sind, bei **2–8 °C** gelagert, bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Die **Rekonstitutionsvorgaben** sind dem **Spezifikationsdatenblatt** zu entnehmen. **Kontrollen (rekonstituierte CTRL 1 oder 2) sind nicht stabil und können nicht aufbewahrt werden.**
- **Vorbereitung des Detektionsantikörperkonzentrats:** Das **lyophilisierte Detektionsantikörperkonzentrat (AB)** ist bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Vor Gebrauch wird das AB mit **120 µl Verdünnungspuffer (DIL)** rekonstituiert und kurz geschwenkt, um eine vollständige Rekonstitution zu gewährleisten. Es wird zum Lösen 10 Minuten stehen gelassen und anschließend gründlich gemischt. Das Detektionsantikörperkonzentrat (rekonstituiertes AB) **kann 8 Wochen bei 2–8 °C oder bis zu 24 Wochen bei -20 °C gelagert werden.**
- **Vorbereitung des Detektionsantikörpers:** Unmittelbar vor Gebrauch muss das Detektionsantikörperkonzentrat (rekonstituiertes AB) **1:100** in **DIL** rekonstituiert werden. **Detektionsantikörper (1:100 verdünntes Detektionsantikörperkonzentrat) ist nicht stabil und kann nicht aufbewahrt werden.**
- **Vorbereitung des Konjugats:** Das **Konjugatkonzentrat (CONJ)** wird vor Gebrauch **1:200** in **Verdünnungspuffer** verdünnt (50 µl CONJ + 10 ml DIL). Das CONJ ist bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. **Konjugat (1:200 verdünntes CONJ) ist nicht stabil und kann nicht aufbewahrt werden.**
- Alle anderen Testreagenzien sind gebrauchsfertig und, bei **2–8 °C** gelagert, bis zum angegebenen Verfallsdatum (siehe Etikett) verwendbar.

## 6. PROBENVORBEREITUNG

### Stuhlprobenaufbereitungssystem (SAS) (Artikel-Nr. K 6998SAS)

#### **Stuhlprobenröhrchen - Anwendung**

Bitte beachten Sie, dass der Verdünnungsfaktor der Stuhlsuspension von der aufgenommenen Stuhlmenge und dem Puffervolumen abhängig ist:

#### **SAS mit 1,5 ml Extraktionspuffer:**

Aufgenommene Stuhlmenge: 15 mg

Puffervolumen: 1,5 ml

Verdünnungsfaktor: 1:100

Die Aufbereitung von Stuhlproben mit Hilfe des SAS wird wie folgt durchgeführt:

- a) Die Rohprobe muss aufgetaut sein, bei auffallend inhomogenen Proben empfiehlt sich eine mechanische Homogenisierung durch Spatel, Impfpfö o. Ä.
- b) Das **unbefüllte Stuhlprobenröhrchen** vor der Verwendung mit **1,5 ml Extraktionspuffer** (1:2,5 verdünntes **IDK Extract®**) **befüllen**. **Wichtig:** Extraktionspuffer vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen!
- c) Röhrchen aufschrauben (gelbes Gewinde), der untere Teil des Stäbchens weist Einkerbungen auf, welche durch Einstechen in die Stuhlprobe vollkommen mit Probe bedeckt werden müssen. Anschließend das Stäbchen durch den Abstreifring zurück ins Röhrchen stecken (leichter Widerstand) und fest verschrauben.
- d) Das Röhrchen solange vortexen bis keine Stuhlreste mehr in den Einkerbungen auszumachen sind. **Wichtig:** Für die Erhebung valider Messwerte ist darauf zu achten, dass die Stuhlsuspension nach dem Mischungsprozess eine möglichst homogene Konsistenz aufweist. Bei besonders festen Stühlen kann die Homogenität der Suspension durch längeres Einweichen (ca. 10 min) des Stuhls in Extraktionspuffer bedeutend gesteigert werden.
- e) Nach erfolgter Suspendierung der Probe wird das Röhrchen ca. 10 Minuten stehen gelassen. Aufschwimmende Schalen von Körnern u. Ä. können hierbei vernachlässigt werden.

- f) Anschließend wird der gesamte Kopf des Stuhlprobenröhrchens (blauer Ring) zusammen mit dem Stäbchen vorsichtig abgeschraubt und verworfen. Beim Abschrauben des Kopfes ist darauf zu achten, dass das abgesetzte Sediment nicht erneut aufgewirbelt wird.

### **Verdünnung I**                      **1:100**

#### *Probenverdünnung*

Die Suspension aus der Probenvorbereitung (Verdünnung I) wird **1:2 mit Waschpuffer** weiterverdünnt. Zum Beispiel:

**300 µl** Überstand (Verdünnung I) + **300 µl** Waschpuffer, mischen =  
**1:2 (Verdünnung II)**

Dies entspricht nun einer Gesamtverdünnung von **1:200**.

**100 µl der Verdünnung II** werden im Test pro Vertiefung eingesetzt.

#### *Serum- und Plasmaproben*

**100 µl** der **unverdünnten Serum- oder Plasmaproben** werden im Test pro Vertiefung eingesetzt.

## **7. TESTDURCHFÜHRUNG**

### *Testprinzip*

Dieser ELISA dient zur quantitativen Bestimmung von Oncostatin M (OSM) in Serum, Plasma und Stuhl.

In diesem Test werden zwei hochspezifische Antikörper gegen OSM verwendet.

Im ersten Inkubationsschritt reagiert OSM aus den Proben mit dem auf die Platte gebundenen Fängerantikörper. Der biotinmarkierte Detektionsantikörper wird zugegeben und bindet an das OSM. Ein sandwichartiger Komplex entsteht, bestehend aus dem Fängerantikörper auf der Platte, OSM und dem biotinylierten Detektionsantikörper. Zur Entfernung aller unspezifisch gebundenen Substanzen wird nach jedem Inkubationsschritt je ein Waschschrift durchgeführt.

Im nächsten Inkubationsschritt wird peroxidasemarkiertes Streptavidin zugegeben, das mit dem Detektionsantikörper reagiert. Nach einem weiteren Waschschrift erfolgt eine Inkubation mit Substrat, Tetramethylbenzidin (TMB). Nach Zugabe der Stopplösung ändert sich die blaue Färbung zu gelb. Die Intensität der Färbung ist dabei direkt proportional zur OSM-Konzentration in der Probe.

Anhand einer mitgeführten Standardkurve – optische Dichte (Absorption bei 450 nm) versus Standardkonzentration – lässt sich die Konzentration der Probe ermitteln.

### Pipettierschema

Vor Gebrauch **alle Reagenzien und Proben** auf **Raumtemperatur** (15–30°C) bringen, gut mischen.

Markieren Sie die Positionen für Standards/Proben im Protokollblatt.

Im Fall einer automatisierten Abarbeitung des Tests können automaten-spezifische Anpassungen der Prozedur notwendig sein, um den jeweiligen technischen Gegebenheiten gerecht zu werden. Für Unterstützung und Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihren Anbieter oder Immundiagnostik AG.

Wir empfehlen, die Bestimmungen in Doppelwerten durchzuführen.

1.	Vertiefungen <b>5 x mit je 250 µl Waschpuffer</b> waschen. Nach dem letzten Waschschrift Resten von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
2.	<b>100 µl Standards, Kontrollen sowie vorbereitete Proben</b> in die jeweiligen Vertiefungen pipettieren.
3.	Streifen abdecken und <b>1 Stunde</b> bei Raumtemperatur (15–30°C) <b>unter Schütteln*</b> inkubieren.
4.	Inhalt der Vertiefungen verwerfen und <b>5 x mit je 250 µl Waschpuffer</b> waschen. Nach dem letzten Waschschrift Resten von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
5.	<b>100 µl Detektionsantikörper</b> (verdünntes Detektionsantikörperkonzentrat) in jede Vertiefung pipettieren.
6.	Streifen abdecken und <b>1 Stunde</b> bei Raumtemperatur (15–30°C) <b>unter Schütteln*</b> inkubieren.
7.	Inhalt der Vertiefungen verwerfen und <b>5 x mit je 250 µl Waschpuffer</b> waschen. Nach dem letzten Waschschrift Resten von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
8.	<b>100 µl Konjugat</b> (verdünntes CONJ) in jede Vertiefung pipettieren.
9.	Streifen abdecken und <b>20 min</b> bei Raumtemperatur (15–30°C) <b>unter Schütteln*</b> inkubieren.

10.	Inhalt der Vertiefungen verwerfen und <b>5 x mit je 250 µl Waschpuffer</b> waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
11.	<b>100 µl Substrat (SUB)</b> in jede Vertiefung pipettieren.
12.	<b>10–20 min**</b> bei Raumtemperatur (15–30°C) <b>im Dunkeln</b> inkubieren.
13.	<b>50 µl Stopplösung (STOP)</b> in jede Vertiefung pipettieren, gut mischen.
14.	<b>Extinktion sofort</b> im Mikrotiterplattenphotometer bei <b>450 nm</b> gegen die Referenzwellenlänge 620 nm (oder 690 nm) messen. Ist keine Referenzwellenlänge vorhanden, wird nur bei 450 nm gemessen. Falls die Extinktion des höchsten Standards den Messbereich des Photometers übersteigt, sollte sofort bei <b>405 nm</b> gegen 620 nm (690 nm) gemessen werden.

\* Wir empfehlen, die Streifen bei 550 rpm (Umdrehungen pro Minute) mit einem Orbit von 2 mm zu schütteln.

\*\* Die Intensität der Farbentwicklung ist temperaturabhängig. Es wird empfohlen, den Farbumschlag während der Inkubationszeit zu beobachten und entsprechend der Farbentwicklung die Reaktion zu stoppen.

## 8. ERGEBNISSE

Die unten beschriebenen mathematischen Modelle können alternativ zur Auswertung benutzt werden. Wir empfehlen die 4-Parameter-Funktion:

### 1. 4-Parameter-Funktion

Für die optische Dichte empfehlen wir eine lineare Ordinate und für die Konzentration eine logarithmische Abszisse (bei einer logarithmischen Abszisse muss für den Standard mit der Konzentration 0 ein Wert kleiner 1 eingegeben werden z. B. 0,001).

### 2. Punkt-zu-Punkt-Auswertung

Für die optische Dichte und für die Konzentration empfehlen wir eine lineare Ordinate bzw. Abszisse.

### 3. Gewichtete Spline-Funktion

Für die optische Dichte und für die Konzentration empfehlen wir eine lineare Ordinate bzw. Abszisse.

Vor jeder automatischen Auswertung sollte stets eine Kontrolle der Doppelwerte auf Plausibilität („Ausreißerkontrolle“) durchgeführt werden; falls dies nicht durch das verwendete Programm erfolgt, sollte die Kontrolle manuell durchgeführt werden.

### Stuhlproben

Die ermittelten Ergebnisse werden mit dem **Verdünnungsfaktor 200** multipliziert, um die tatsächlichen Konzentrationen zu erhalten.

Sollte ein **anderer Verdünnungsfaktor** verwendet worden sein, so ist die ermittelte Konzentration mit dem verwendeten Verdünnungsfaktor zu multiplizieren.

### Serum- und Plasmaproben

Die Konzentrationen der unverdünnten Proben entsprechen dem ermittelten Ergebnis.

Sollte ein **Verdünnungsfaktor** verwendet worden sein, so ist die ermittelte Konzentration mit dem verwendeten Verdünnungsfaktor zu multiplizieren.

## 9. EINSCHRÄNKUNGEN

Proben mit Konzentrationen oberhalb des Messbereichs (Definition siehe unten) können stärker verdünnt und erneut gemessen werden. Bitte beachten Sie diese stärkere Verdünnung bei der Ergebnisberechnung.

Proben mit Konzentrationen unterhalb des Messbereichs (Definition siehe unten) können nicht klar quantifiziert werden.

Die Obergrenze des Messbereichs ergibt sich aus:

*höchste Konzentration der Standardkurve* × *anzuwendender Probenverdünnungsfaktor*

Die Untergrenze des Messbereichs ergibt sich aus:

*LoB* × *anzuwendender Probenverdünnungsfaktor*

LoB siehe Kapitel „Testcharakteristika“.

## 10. QUALITÄTSKONTROLLE

Immundiagnostik AG empfiehlt den Einsatz von externen Kontrollen für die interne Qualitätskontrolle, wenn möglich.

Wir empfehlen, bei jedem Testansatz Kontrollen mitzumessen. Die Ergebnisse der Kontrollen müssen mithilfe angemessener statistischer Methoden auf Richtigkeit überprüft werden. Liegen eine oder mehrere Kontrollen außerhalb des angegebenen Bereiches, kann Immundiagnostik die Richtigkeit der Messergebnisse nicht gewährleisten.

## Referenzwerte

Wir empfehlen jedem Labor, einen eigenen Referenzbereich zu etablieren.

## 11. TESTCHARAKTERISTIKA

### Genauigkeit – Präzision

#### Wiederholbarkeit (Intra-Assay); n = 40

Die Wiederholbarkeit wurde mit 2 Stuhlproben unter **gleichbleibenden** Bedingungen (Bediener, Messgerät, Tag, Kitcharge identisch) bestimmt.

Probe	Mittelwert [ng/ml]	VK [%]
1	8,40	4,1
2	74,24	2,1

#### Reproduzierbarkeit (Inter-Assay); n = 48

Die Reproduzierbarkeit wurde mit 4 Stuhlproben unter **variablen** Bedingungen (Bediener, Messgeräte, Tage, Kitchargen unterschiedlich) bestimmt.

Probe	Mittelwert [ng/ml]	VK [%]
1	4,85	9,1
2	16,11	5,3
3	8,88	7,9
4	79,40	6,7

### Linearität

Die Linearität zeigt die Fähigkeit einer Methode, ein Ergebnis proportional zur Analytkonzentration in einer Probe zu liefern. Sie wurde gemäß CLSI-Richtlinie EP6-A mittels einer seriellen Verdünnung von 2 Stuhlproben nachgewiesen.

Probe	Verdünnung	Erwartet [pg/ml]	Gemessen [pg/ml]	Wiederfindung [%]
A	1:100	776,59	776,59	100,00
	1:200	388,30	369,36	95,12
	1:400	194,15	181,77	93,63
	1:800	97,07	94,79	97,65
	1:1 600	48,54	48,13	99,16
	1:3 200	24,27	26,01	107,19
B	1:100	1 167,28	1 167,28	100,00
	1:200	583,64	569,88	97,64
	1:400	291,82	287,31	98,45
	1:800	145,91	161,09	110,41
	1:1 600	72,96	93,04	127,53
	1:3 200	36,48	46,90	128,57
	1:6 400	18,24	22,32	122,38

### Analytische Sensitivität

Die im Folgenden aufgeführten Werte wurden in Bezug auf die Standardkurve ohne Berücksichtigung eventuell verwendeter Probenverdünnungsfaktoren ermittelt.

Leerwert (*limit of blank*, LoB) 5,408 pg/ml

Nachweisgrenze (*limit of detection*, LoD) 8,152 pg/ml

Bestimmungsgrenze (*limit of quantitation*, LoQ) 8,152 pg/ml

Die Auswertung wurde gemäß der CLSI-Richtlinie EP17-A2 durchgeführt. Das festgelegte Präzisionsziel für die Bestimmungsgrenze lag bei 20% VK.

## 12. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in-vitro*-Diagnostik eingesetzt werden.
- Das für Kitkomponenten verwendete humane Material wurde auf HIV, Hepatitis B und Hepatitis C getestet und für negativ befunden. Dennoch wird empfohlen, die Kitkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material zu behandeln.

- Die Kitkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen Natriumazid oder ProClin. Natriumazid bzw. ProClin sind gesundheitsgefährdend und umweltschädlich. Auch Substrate für enzymatische Farbreaktionen können zu Haut- und/oder Atemwegsreizungen führen. Jeder Kontakt mit den Substanzen ist zu vermeiden. Weiterführende Sicherheitsinformationen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen, welches Sie auf Anfrage bei der Immundiagnostik AG erhalten.
- Das 10x Waschpufferkonzentrat (WASHBUF) enthält Tenside, welche bei Augenkontakt zu schweren Augenreizungen führen können.  
**Achtung:** Verursacht schwere Augenreizung. **BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN:** Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
- Die Stopplösung besteht aus verdünnter Schwefelsäure ( $H_2SO_4$ ).  $H_2SO_4$  ist eine starke Säure und muss auch in verdünnter Form mit Vorsicht benutzt werden.  $H_2SO_4$  verursacht bei Kontakt mit der Haut Verätzungen. Es sollte daher mit Schutzhandschuhen, Schutzkleidung und Schutzbrille gearbeitet werden. Bei Kontakt mit der Säure muss die verätzte Stelle sofort mit viel Wasser gespült werden. Dämpfe nicht einatmen und Inhalation vermeiden.

### 13. TECHNISCHE MERKMALE

- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden. Ferner dürfen Kavitäten unterschiedlicher Mikrotiterplatten, selbst der gleichen Charge, nicht zusammengefügt und zur Analyse verwendet werden, da schon geöffnete Mikrotiterplatten anderen Bedingungen unterliegen als verschlossene.
- Qualitätskontrollen sollten immer mitgemessen werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf der Kitverpackung angegebenen Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Substratlösung muss vor Gebrauch farblos sein.
- Mikrotiterstreifen müssen während der Inkubationen mit Folie abgedeckt sein.

- Vermeiden Sie Schaumbildung beim Mischen der Reagenzien.
- Stopfen und Verschlüsse verschiedener Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Der Assay ist immer nach der dem Kit beigelegten Arbeitsanleitung durchzuführen.

## 14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Für die Qualitätskontrolle sind die dafür erstellten Richtlinien für medizinische Laboratorien zu beachten.
- **IDK®** und **IDK Extract®** sind Marken der Immundiagnostik AG.
- Die Testcharakteristika wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettiervolumina der verschiedenen Komponenten wurden vom Hersteller festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik AG 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 AG, zurückzusenden.

## 15. ENTSORGUNG

Proben und andere potenziell infektiöse Materialien müssen entsprechend den behördlichen Vorschriften entsorgt werden.

## 16. LITERATUR

1. Komori, Tadasuke, and Yoshihiro Morikawa. 2018. "Oncostatin M in the Development of Metabolic Syndrome and Its Potential as a Novel Therapeutic Target." *Anatomical Science International* 93 (2): 169–76.
2. West, Nathaniel R, Ahmed N Hegazy, Benjamin M J Owens, et al. 2017. "Oncostatin M Drives Intestinal Inflammation and Predicts Response to Tumor Necrosis Factor-Neutralizing Therapy in Patients with Inflammatory Bowel Disease." *Nature Medicine* 23 (5): 579–89.

3. Cao, Ying, Dai, Yibei, Zhang, Lingyu, et al. 2021 „Combined use of fecal biomarkers in inflammatory bowel diseases: oncostatin M and Calprotectin“ *Journal of Inflammation Research* 14: 6409 – 6419
4. Guo, Angela, Ross, Cameron, Chande, Nilesh et al. 2022 “High oncostatin M predicts lack of clinical remission for patients with inflammatory bowel disease on tumor necrosis factor  $\alpha$  antagonists” *Scientific Reports* 12: 1185
5. Cao, Ying, Dai, Yibei, Zhang, Lingyu, et al. 2022 “Serum oncostatin M is a potential biomarker of disease activity and infliximab response in inflammatory bowel disease measured by chemiluminescence immunoassay” *Clinical Biochemistry* 100: 35 – 41
6. Minar, Phillip, Lehn, Christina, Tsai, Yi-Ting, et al. “Elevated Pretreatment Plasma Oncostatin M Is Associated With Poor Biochemical Response to Infliximab” *Crohn's & Colitis* 360 1(3):otz026. doi: 10.1093/crocol/otz026
7. Verstockt, Sare, Verstockt, Bram, Machiels, Kathleen et al. 2021 „Oncostatin M Is a Biomarker of Diagnosis, Worse Disease Prognosis, and Therapeutic Nonresponse in Inflammatory Bowel Disease“ *Inflammatory Bowel Diseases* 27(10): 1564 – 1575

## 17. SYMBOLE

	Temperaturbegrenzung		Bestellnummer
	In-Vitro-Diagnostikum		Zu verwenden mit
	Hersteller		Inhalt ausreichend für <no>-Prüfungen
	Chargenbezeichnung		Verwendbar bis
	Achtung		Gebrauchsanweisung beachten
	Spezifikationsdatenblatt beachten		Reizend

Manual

# IDK<sup>®</sup> Oncostatin M

*For the in vitro determination of oncostatin M  
in serum, plasma, and stool*

Valid from 2024-08-21

**REF** K 6926



**IVD**



**Immundiagnostik AG**, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: [info@immundiagnostik.com](mailto:info@immundiagnostik.com)

[www.immundiagnostik.com](http://www.immundiagnostik.com)

**Safety information**

The assay has to be performed exclusively according to the instructions for use enclosed with the kit. Important safety information for this product can be found in the chapter 12.

# Table of Contents

<b>1. INTENDED USE</b>	<b>20</b>
<b>2. INTRODUCTION</b>	<b>20</b>
<b>3. MATERIAL SUPPLIED</b>	<b>21</b>
<b>4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED</b>	<b>21</b>
<b>5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS</b>	<b>22</b>
<b>6. PREPARATION OF SAMPLES</b>	<b>23</b>
<i>Extraction of the stool samples</i>	23
<i>Dilution of samples</i>	24
<i>Serum and plasma samples</i>	24
<b>7. ASSAY PROCEDURE</b>	<b>25</b>
<i>Principle of the test</i>	25
<i>Test procedure</i>	25
<b>8. RESULTS</b>	<b>27</b>
<b>9. LIMITATIONS</b>	<b>28</b>
<b>10. QUALITY CONTROL</b>	<b>28</b>
<i>Reference range</i>	28
<b>11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS</b>	<b>28</b>
<i>Accuracy – Precision</i>	28
<i>Linearity</i>	29
<i>Analytical Sensitivity</i>	30
<b>12. PRECAUTIONS</b>	<b>30</b>
<b>13. TECHNICAL HINTS</b>	<b>31</b>
<b>14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE</b>	<b>31</b>
<b>15. DISPOSAL</b>	<b>31</b>
<b>16. REFERENCES</b>	<b>32</b>
<b>17. SYMBOL EXPLANATION</b>	<b>33</b>

## 1. INTENDED USE

IDK® Oncostatin M is an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the quantitative determination of Oncostatin M in serum, plasma and stool. The assay is an *in vitro* diagnostic medical device and is intended to be used by professional users in a laboratory environment. The test can be performed manually.

## 2. INTRODUCTION

Oncostatin M (OSM), a member of the IL-6 cytokine family, plays a role in various homeostatic and pathophysiological processes. OSM promotes tissue repair and remodeling, but also regulates growth of different cancer cells. Upregulation of OSM promotes skin and lung inflammation or atherosclerosis [1].

OSM appears to be involved in the maintenance of intestinal inflammation, as OSM and its receptor OSMR are increasingly expressed in the intestinal mucosa of patients with inflammatory bowel disease (IBD) and primarily influence the subsequent inflammatory response [2]. A 2020 study has shown that a combination of OSM with the established inflammatory marker calprotectin is beneficial for IBD diagnosis [3].

The treatment of IBD (e.g. Crohn's disease, ulcerative colitis), rheumatic diseases or psoriasis is increasingly carried out with anti-TNF $\alpha$  antibodies, which directly intervene in the underlying inflammatory reaction. However, this treatment does not work in about 40% of patients (primary treatment failure) or loses its effect over time (secondary treatment failure). Diverse studies have shown an association between elevated OSM concentrations and reduced treatment success with anti-TNF $\alpha$  antibodies [4, 5, 6, 7]. Thus, the amount of OSM in the gut can be used as a predictive biomarker for primary treatment failure of TNF $\alpha$  inhibitors in IBD.

The IDK® Oncostatin M ELISA can be used to determine the level of OSM in serum, plasma and stool. The results help the treating physician to plan and optimize therapy.

### 3. MATERIAL SUPPLIED

Cat. No.	Label	Kit components	Quantity
K6926	PLATE	Microtiter plate, pre-coated	12 x 8 wells
K0001.C.100	WASHBUF	Wash buffer concentrate, 10x	1 x 100 ml
K6926	AB	Detection antibody concentrate , lyophilised (secondary antibody, goat anti-OSM, biotinylated)	1 vial
K6926	CONJ	Conjugate concentrate, peroxidase-labelled	1 vial
K6926	STD	Standard concentrate, lyophilised (see specification for concentration)	4 x 1 vial
K6926	CTRL 1 CTRL 2	Control 1/2, lyophilised (see specification for reconstitution and concentrations)	4 vial each
K6926	DIL	Reagent diluent, ready-to-use	1 x 100 ml
K0002.15	SUB	Substrate (tetramethylbenzidine), ready-to-use	1 x 15 ml
K0003.15	STOP	Stop solution, ready-to-use	1 x 15 ml
K 6999.C.100	IDK Extract®	Extraction buffer concentrate <i>IDK Extract®</i> 2.5x	1 x 100 ml

For reorders of single components, use the catalogue number followed by the label as product number.

### 4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Ultra pure water\*
- Calibrated precision pipettors and 10–1 000 µl tips
- Foil to cover the microtiter plate
- Horizontal microtiter plate shaker
- Multi-channel pipets or repeater pipets
- Vortex
- Standard laboratory glass or plastic vials, cups, etc.
- Microtiter plate reader (required filters see chapter 7)

\* Immundiagnostik AG recommends the use of Ultra Pure Water (Water Type 1; ISO 3696), which is free of undissolved and colloidal ions and organic molecules (free of particles > 0.2 µm) with an electrical conductivity of 0.055 µS/cm at 25 °C (≥ 18.2 MΩ cm).

## 5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS

- Bring all **reagents and samples to room temperature** (20–25 °C).
- To run the assay more than once, ensure that reagents are stored at the conditions stated on the label. **Prepare only the appropriate amount necessary for each run.** The kit can be used up to 4 times within the expiry date stated on the label.
- Reagents with a volume less than **100 µl** should be centrifuged before use to avoid loss of volume.
- **Preparation of the wash buffer:** The **wash buffer concentrate (WASHBUF)** has to be diluted with ultra pure water **1:10** before use (100 ml WASHBUF + 900 ml ultra pure water), mix well. Crystals could occur due to high salt concentration in the concentrate. Before dilution, the crystals have to be redissolved at room temperature or in a water bath at 37 °C. The **WASHBUF** is stable at **2–8 °C** until the expiry date stated on the label. **Wash buffer** (1:10 diluted WASHBUF) can be stored in a closed flask at **2–8 °C for 1 month**.
- **Preparation of the extraction buffer:** The **extraction buffer concentrate IDK Extract®** has to be diluted with ultrapure water **1:2.5** before use (100 ml **IDK Extract®** + 150 ml ultrapure water), mix well. Crystals could occur due to high salt concentration in the concentrate. Before dilution, the crystals have to be redissolved at 37 °C in a water bath. The **IDK Extract®** is stable at **2–8 °C** until the expiry date stated on the label. Extraction buffer (1:2.5 diluted **IDK Extract®**) can be stored in a closed flask at **2–8 °C for 4 months**.
- The **lyophilised standard concentrate (STD)** is stable at **2–8 °C** until the expiry date stated on the label. Before use, the STD has to be reconstituted with **500 µl reagent diluent (DIL)** and mixed by gentle inversion to ensure complete reconstitution. Allow the vial content to dissolve for 10 minutes and then mix thoroughly. **Create a five point standard curve by two-fold serial dilution of the standard** (reconstituted STD) in **DIL**; use the **first dilution** as highest standard and **reagent diluent (DIL)** as blank value. **Standard** (reconstituted STD) **can be stored at 2–8 °C for 8 weeks**.
- The **lyophilised controls (CTRL 1 and 2)** can be used until the expiry date stated on the label when stored at **2–8 °C**. **Reconstitution** details are given in the **specification data sheet**. Controls (reconstituted CTRL 1 and 2) are **not stable and cannot be stored**.

- **Preparation of the detection antibody concentrate:** The **lyophilised detection antibody concentrate (AB)** is stable at **2–8 °C** until the expiry date stated on the label. Before use, the AB has to be reconstituted with **120 µl reagent diluent (DIL)** and mixed by gentle inversion to ensure complete reconstitution. Allow the vial content to dissolve for 10 minutes and then mix thoroughly. The **detection antibody concentrate** (reconstituted AB) is stable at **2–8 °C for 8 weeks or at -20 °C up to 24 weeks**.
- **Preparation of the detection antibody:** Immediately before use, dilute the detection antibody concentrate (reconstituted AB) **1:100** in **DIL**. **Detection antibody** (1:100 diluted detection antibody concentrate) **is not stable and cannot be stored**.
- **Preparation of the conjugate:** Before use, the **conjugate concentrate (CONJ)** has to be diluted **1:200** in **reagent diluent** (50 µl CONJ + 10 ml DIL). The CONJ is stable at **2–8 °C** until the expiry date stated on the label. **Conjugate** (1:200 diluted CONJ) **is not stable and cannot be stored**.
- All other test reagents are ready-to-use. Test reagents are stable until the expiry date (see label) when stored at **2–8 °C**.

## 6. PREPARATION OF SAMPLES

### *Extraction of the stool samples*

**Extraction buffer** (1:2.5 diluted *IDK Extract*®) is used as a **sample extraction buffer**. We recommend the following sample preparation:

#### **Stool Sample Application System (SAS) (Cat. No.: K 6998SAS)**

##### ***Stool sample tube – Instructions for use***

Please note that the dilution factor of the final stool suspension depends on the amount of stool sample used and the volume of the buffer.

##### ***SAS with 1.5 ml extraction buffer:***

Applied amount of stool:	15 mg
Buffer Volume:	1.5 ml
Dilution Factor:	1:100

Please follow the instructions for the preparation of stool samples using the SAS as follows:

- a) The raw stool sample has to be thawed. For particularly heterogeneous samples we recommend a mechanical homogenisation using an applicator, inoculation loop or similar device.
- b) Fill the **empty sample tube** with **1.5 ml extraction buffer** (1:2.5 diluted **IDK Extract®**) before using it with the sample. Important: Allow the extraction buffer to reach room temperature.
- c) Unscrew the tube (yellow part of cap) to open. Insert the yellow dipstick into the sample. The lower part of the dipstick has notches which need to be covered completely with stool after inserting it into the sample. Place dipstick back into the tube. When putting the stick back into the tube, excess material will be stripped off, leaving 15 mg of sample to be diluted. Screw tightly to close the tube.
- d) Vortex the tube well until no stool sample remains in the notches. **Important:** Please make sure that you have a maximally homogenous suspension after shaking. Especially with more solid samples, soaking the sample in the tube with buffer for ~ 10 minutes improves the result.
- e) Allow sample to stand for ~10 minutes until sediment has settled. Floating material like shells of grains can be neglected.
- f) Carefully unscrew the complete cap of the tube including the blue ring plus the dipstick. Discard cap and dipstick. Make sure that the sediment will not be dispersed again.

**Dilution I: 1:100**

### *Dilution of samples*

The supernatant of the sample preparation procedure (dilution I) is diluted **1:2 in wash buffer**. For example:

**300 µl** supernatant (dilution I) + **300 µl** wash buffer, mix well = **1:2 (dilution II)**

This results in a final dilution of **1:200**.

For analysis, pipet **100 µl of dilution II** per well.

### *Serum and plasma samples*

For analysis, pipet **100 µl undiluted serum or plasma sample** per well.

## 7. ASSAY PROCEDURE

### *Principle of the test*

This ELISA is designed for the quantitative determination of oncostatin M (OSM) in serum, plasma, and stool.

In this assay, two highly specific antibodies against OSM are used.

In a first incubation step, the OSM in the samples reacts with the capture antibody coated onto the microtiter plate. After addition of the biotinylated detection antibody against OSM, a sandwich-type complex is formed consisting of the binding antibody on the plate, OSM, and the biotinylated detection antibody. To remove all unspecific bound substances, a washing step is carried out after each incubation step.

In the next step, peroxidase-labelled streptavidin is added which reacts with the detection antibody. After another washing step, the solid phase is incubated with the substrate, TMB. An acidic stopping solution is subsequently added. The blue colour changes to yellow. The intensity of the yellow colour is directly proportional to the concentration of OSM in the sample.

A dose response curve of the absorbance unit (optical density, OD at 450 nm) vs. concentration is generated, using the values obtained from the standard. OSM, present in the samples, is determined directly from this curve.

### *Test procedure*

Bring all **reagents and samples to room temperature** (15–30 °C) and mix well.

Mark the positions of standards/samples on a protocol sheet.

For automated ELISA processors, the given protocol may need to be adjusted according to the specific features of the respective automated platform. For further details please contact your supplier or Immundiagnostik AG.

We recommend to carry out the tests in duplicate.

1.	Wash each well <b>5 times</b> with <b>250 µl wash buffer</b> . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
2.	Add each <b>100 µl standards, controls and prepared samples</b> into the respective wells.

3.	Cover the strips and incubate for <b>1 hour</b> at room temperature (15–30 °C) on a <b>horizontal shaker*</b> .
4.	Discard the content of each well and wash <b>5 times</b> with <b>250 µl wash buffer</b> . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
5.	Add <b>100 µl detection antibody</b> (diluted detection antibody concentrate) into each well.
6.	Cover the strips and incubate for <b>1 hour</b> at room temperature (15–30 °C) on a <b>horizontal shaker*</b> .
7.	Discard the content of each well and wash <b>5 times</b> with <b>250 µl wash buffer</b> . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
8.	Add <b>100 µl conjugate</b> (diluted CONJ) into each well.
9.	Cover the strips and incubate for <b>20 min</b> at room temperature (15–30 °C) on a <b>horizontal shaker*</b> .
10.	Discard the content of each well and wash <b>5 times</b> with <b>250 µl wash buffer</b> . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
11.	Add <b>100 µl substrate</b> (SUB) into each well.
12.	Incubate for <b>10–20 min**</b> at room temperature (15–30 °C) in the <b>dark</b> .
13.	Add <b>50 µl stop solution</b> (STOP) into each well and mix well.
14.	Determine <b>absorption immediately</b> with an ELISA reader at <b>450 nm</b> against 620 nm (or 690 nm) as a reference. If no reference wavelength is available, read only at 450 nm. If the extinction of the highest standard exceeds the range of the photometer, absorption must be measured immediately at <b>405 nm</b> against 620 nm as a reference.

\* We recommend shaking the strips at 550 rpm with an orbit of 2 mm.

\*\* The intensity of the colour change is temperature sensitive. We recommend observing the colour change and stopping the reaction upon good differentiation.

## 8. RESULTS

The following algorithms can be used alternatively to calculate the results. We recommend using the 4 parameter algorithm.

### 1. 4 parameter algorithm

It is recommended to use a linear ordinate for the optical density and a logarithmic abscissa for the concentration. When using a logarithmic abscissa, the zero standard must be specified with a value less than 1 (e.g. 0.001).

### 2. Point-to-point calculation

We recommend a linear ordinate for the optical density and a linear abscissa for the concentration.

### 3. Spline algorithm

We recommend a linear ordinate for the optical density and a linear abscissa for the concentration.

The plausibility of the duplicate values should be examined before the automatic evaluation of the results. If this option is not available with the programme used, the duplicate values should be evaluated manually.

### Stool samples

The obtained results have to be multiplied by the **dilution factor of 200** to get the actual concentrations.

In case **another dilution factor** has been used, multiply the obtained results by the dilution factor used.

### Serum and plasma samples

The concentration of the serum and plasma samples corresponds to the obtained results.

In case **a dilution factor** has been used, multiply the obtained results by the dilution factor used.

## 9. LIMITATIONS

Samples with concentrations above the measurement range (see definition below) can be further diluted and re-assayed. Please consider this higher dilution when calculating the results.

Samples with concentrations lower than the measurement range (see definition below) cannot be clearly quantified.

The upper limit of the measurement range can be calculated as:

*highest concentration of the standard curve × sample dilution factor to be used*

The lower limit of the measurement range can be calculated as:

*LoB × sample dilution factor to be used*

LoB see chapter "Performance Characteristics".

## 10. QUALITY CONTROL

Immundiagnostik AG recommends the use of external controls for internal quality control, if possible.

Control samples should be analysed with each run. Results, generated from the analysis of control samples, should be evaluated for acceptability using appropriate statistical methods.

### *Reference range*

We recommend each laboratory to establish its own reference range.

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### *Accuracy – Precision*

#### **Repeatability (intra-assay); n = 40**

The repeatability was assessed with 2 stool samples under **constant** parameters (same operator, instrument, day and kit lot).

Sample	Mean value [ng/ml]	CV [%]
1	8.40	4.1
2	74.24	2.1

**Reproducibility (inter-assay); n = 48**

The reproducibility was assessed with 2 stool samples under **varying** parameters (different operators, instruments, days and kit lots).

Sample	Mean value [ng/ml]	CV [%]
1	4.85	9.1
2	16.11	5.3
3	8.88	7.9
4	79.40	6.7

*Linearity*

The linearity states the ability of a method to provide results proportional to the concentration of analyte in the test sample within a given range. This was assessed according to CLSI guideline EP06-A by a serial dilution of 2 different stool samples.

Sample	Dilution	Expected [pg/ml]	Obtained [pg/ml]	Recovery [%]
A	1:100	776.59	776.59	100.00
	1:200	388.30	369.36	95.12
	1:400	194.15	181.77	93.63
	1:800	97.07	94.79	97.65
	1:1 600	48.54	48.13	99.16
	1:3 200	24.27	26.01	107.19
B	1:100	1 167.28	1 167.28	100.00
	1:200	583.64	569.88	97.64
	1:400	291.82	287.31	98.45
	1:800	145.91	161.09	110.41
	1:1 600	72.96	93.04	127.53
	1:3 200	36.48	46.90	128.57
	1:6 400	18.24	22.32	122.38

### *Analytical Sensitivity*

The following values have been estimated based on the concentrations of the standard without considering possibly used sample dilution factors.

Limit of blank, LoB	5.408 pg/ml
Limit of detection, LoD	8.152 pg/ml
Limit of quantitation, LoQ	8.152 pg/ml

The evaluation was performed according to the CLSI guideline EP17-A2. The specified accuracy goal for the LoQ was 20% CV.

## 12. PRECAUTIONS

- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- GLP (Good Laboratory Practice) guidelines have to be observed.
- Human materials used in kit components were tested and found to be negative for HIV, Hepatitis B and Hepatitis C. However, for safety reasons, all kit components should be treated as potentially infectious.
- Kit reagents contain sodium azide or ProClin as bactericides. Sodium azide or ProClin are hazardous to health and the environment. Substrates for enzymatic colour reactions may also cause skin and/or respiratory irritation. Any contact with the substances must be avoided. Further safety information can be found in the safety data sheet, which is available from Immundiagnostik AG on request.
- The 10x Wash buffer concentrate (WASHBUF) contains surfactants which may cause severe eye irritation in case of eye contact.

**Warning:** Causes serious eye irritation. **IF IN EYES:** Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. If eye irritation persists: get medical Advice/attention.

- The stop solution consists of diluted sulphuric acid, a strong acid. Although diluted, it still should 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 up immediately with copious quantities of water. Do not breath vapour and avoid inhalation.

### 13. TECHNICAL HINTS

- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay. Furthermore we recommend not assembling wells of different microtiter plates for analysis, even if they are of the same batch.
- Control samples should be analysed with each run.
- Reagents should not be used beyond the expiration date stated on the kit label.
- Substrate solution should remain colourless until use.
- To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary.
- Avoid foaming when mixing reagents.
- Do not mix plugs and caps from different reagents.
- The assay should always be performed according to the enclosed manual.

### 14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- The guidelines for medical laboratories should be followed.
- *IDK®* and *IDK Extract®* are trademarks of Immundiagnostik AG.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the components are defined by the producer. Any variation of the test procedure, which is not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage resulting from incorrect use.
- Warranty claims and complaints regarding deficiencies must be logged within 14 days after receipt of the product. The product should be send to Immundiagnostik AG along with a written complaint.

### 15. DISPOSAL

Specimens and other potentially infectious materials must be disposed of in accordance with regulatory requirements.

## 16. REFERENCES

1. Komori, Tadasuke, and Yoshihiro Morikawa. 2018. "Oncostatin M in the Development of Metabolic Syndrome and Its Potential as a Novel Therapeutic Target." *Anatomical Science International* 93 (2): 169–76.
2. West, Nathaniel R, Ahmed N Hegazy, Benjamin M J Owens, et al. 2017. "Oncostatin M Drives Intestinal Inflammation and Predicts Response to Tumor Necrosis Factor-Neutralizing Therapy in Patients with Inflammatory Bowel Disease." *Nature Medicine* 23 (5): 579–89.
3. Cao, Ying, Dai, Yibei, Zhang, Lingyu, et al. 2021 „Combined use of fecal biomarkers in inflammatory bowel diseases: oncostatin M and Calprotectin" *Journal of Inflammation Research* 14: 6409 – 6419
4. Guo, Angela, Ross, Cameron, Chande, Nilesh et al. 2022 "High oncostatin M predicts lack of clinical remission for patients with inflammatory bowel disease on tumor necrosis factor  $\alpha$  antagonists" *Scientific Reports* 12: 1185
5. Cao, Ying, Dai, Yibei, Zhang, Lingyu, et al. 2022 "Serum oncostatin M is a potential biomarker of disease activity and infliximab response in inflammatory bowel disease measured by chemiluminescence immunoassay" *Clinical Biochemistry* 100: 35 – 41
6. Minar, Phillip, Lehn, Christina, Tsai, Yi-Ting, et al. "Elevated Pretreatment Plasma Oncostatin M Is Associated With Poor Biochemical Response to Infliximab" *Crohn's & Colitis* 360 1(3):otz026. doi: 10.1093/crocol/otz026
7. Verstockt, Sare, Verstockt, Bram, Machiels, Kathleen et al. 2021 „Oncostatin M Is a Biomarker of Diagnosis, Worse Disease Prognosis, and Therapeutic Nonresponse in Inflammatory Bowel Disease" *Inflammatory Bowel Diseases* 27(10): 1564 – 1575

## 17. SYMBOL EXPLANATION

	Temperature limitation		Catalogue number
	In Vitro Diagnostic Medical Device		To be used with
	Manufacturer		Contains sufficient for <no> tests
	Lot number		Use by
	Attention		Consult instructions for use
	Consult specification data sheet		Irritant

## **Immundiagnostik AG**

Stubenwald-Allee 8a  
64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: +49 6251 70190-363

[info@immundiagnostik.com](mailto:info@immundiagnostik.com)

[www.immundiagnostik.com](http://www.immundiagnostik.com)

