

SAA-CHECK-1 ad us. vet.

(Für/for EasyReader® / EasyReader Plus®)

**Quantitative Bestimmung von Serum Amyloid A in
Vollblut, Plasma oder Serum von Katze und Pferd**

In vitro Diagnostikum

GEBRAUCHSINFORMATION

**Quantitative determination of Serum Amyloid A in
whole blood, plasma or serum of cat and horse**

In vitro diagnosticum

INSTRUCTIONS FOR USE

**Für diesen Test ist die Verwendung einer
Laborpipette (nicht im Kit enthalten) erforderlich!**

**For this test, the use of a laboratory pipette
(not included in the kit) is required!**


Hersteller / Manufacturer:






 www.vedalab.com

Distributor:



Lochauer Str. 2
6912 Hörbranz – AUSTRIA
 (+43) 5573 85400

 (+43) 5573 85400-4
 info@megacor.at
 www.megacor.com

Version 02/2020

1. INFORMATIONEN ZUM TESTKIT



1.1. TESTKITKOMPONENTEN

1 Testkit **SAA-CHECK-1** enthält:

1. 10 oder 20 Testkassetten, beschichtet mit monoklonalen Antikörpern
2. 10 oder 20 Tropfflaschen **A** mit je 2,0 ml Pufferlösung
3. 5 oder 10 Tropfflaschen **A** (ohne Pufferlösung)
4. 20 oder 40 Pipettenspitzen (10 μ l)
5. 5 oder 10 Pipettenspitzen (200 μ l)
6. 1 Gebrauchsinformation

1.2. HALTBARKEIT UND LAGERUNG



Lagerung
15–25 °C



Verwendbar bis
– siehe Etikett



Für den tierärztlichen
Gebrauch



Chargen-Bezeichnung



In vitro Diagnostikum



Keine Reagenzien
verschiedener Testkits,
Chargennummern oder
mit abgelaufenem Ver-
fallsdatum verwenden.



Gebrauchsinformation
genau beachten

1.3. HAFTUNG

Das gesamte Haftungsrisiko im Zusammenhang mit der Verwendung dieses Produktes liegt beim Käufer. Der Hersteller übernimmt keine Haftung für indirekte, spezielle oder daraus folgende Schäden jeglicher Art, die aus der Benutzung, Testdurchführung und -auswertung dieses Produktes resultieren.

2. EINLEITUNG

Auf Gewebeschädigungen und Entzündungen reagiert der Körper u. a. mit der Bildung so genannter Akute-Phase-Proteine (APP) in der Leber. Ein wichtiges APP bei vielen Tierarten ist Serum-Amyloid A (SAA) mit niedrigen Serumkonzentrationen während der normalen Homöostase und einer schnellen Antwort während und nach der Entzündungsphase.

Die physiologische SAA-Konzentration liegt bei der Katze unter 10 mg/l, beim Pferd unter 30 mg/l. Ein drastischer Anstieg bis auf das über 1000-fache erfolgt innerhalb weniger Stunden (4–6 Stunden, Spitze nach 36 bis 48 Stunden) aufgrund von Entzündungen, Infektionen, Traumata oder Wundheilungsstörungen (Pferd). Sobald der Entzündungsreiz durch eine erfolgreiche Therapie nachlässt, sinkt die SAA-Konzentration wieder ab (Halbwertszeit 24–48 Stunden).

Die veterinärmedizinische Bestimmung von SAA im Blut ermöglicht nicht nur die Feststellung von klinischen oder subklinischen Entzündungen, sondern auch eine zuverlässige

sige Verlaufs- und Therapiekontrolle. Ein weiterer Vorteil der SAA-Bestimmung liegt in der Unabhängigkeit dieses Markers gegenüber Antibiotika, Glukokortikoiden oder Stress.

3. TESTPRINZIP

Der **SAA-CHECK-1** ist ein Schnelltest zur quantitativen Bestimmung von Serum-Amyloid A im Vollblut, Plasma oder Serum von Katze und Pferd.

Durch die Kombination von mobilen konjugatgebundenen Antikörpern und membran-gebundenen Antikörpern wird die SAA-Konzentration der Proben mit hoher Sensitivität nachgewiesen.

In Abhängigkeit von der SAA-Konzentration in der Probe erscheinen eine Test- und eine Kontrolllinie unterschiedlicher Farbintensität, die **ausschließlich mithilfe des EasyReader®** quantitativ ausgewertet werden können.

4. INFORMATIONEN ZUM PROBENMATERIAL

- Das Probenmaterial sollte unter Standard-Laborbedingungen (aseptisch, nicht hämolytisch, lipämisch oder ikterisch) entnommen werden.
 - Der **SAA-CHECK-1** kann mit antikoaguliertem EDTA-, Citrat- oder Heparin-Vollblut, Plasma oder Serum von Katze und Pferd verwendet werden. **Nativblut (Vollblut ohne Antikoagulanz) darf nicht verwendet werden!**
 - **ACHTUNG:** Unvollständig gefüllte und/oder unzureichend durchmischte EDTA-, Citrat- oder Heparinröhrchen können Störeffekte (Antikoagulanz-Überschuss) verursachen, die zu unspezifischen Testergebnissen führen können.
 - **Vollblut (mit Antikoagulanz) muss innerhalb von 4 Stunden getestet werden!**
 - **ACHTUNG:** Bei **15–25°C** kann Plasma oder Serum bis max. 24 Stunden gelagert werden. Wird der Test nach mehr als 24 Stunden durchgeführt, sollten die Proben bei mindestens **-20°C** aufbewahrt werden. **Nicht im Kühlschrank lagern!** Wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermeiden.
 - Das Probenmaterial vor der Verwendung gut homogenisieren!
 - Beachten Sie, dass das Probenmaterial, ebenso wie alle verwendeten Testkitkomponenten, zum Zeitpunkt der Anwendung Raumtemperatur (15–25°C) haben sollte.
-

5. EASYREADER® VORBEREITUNG

- Bitte lesen Sie vor Beginn der Probenvorbereitung/der Testdurchführung die Easy Reader Gebrauchsinformation! Das Gerät kann sowohl im **Plus Modus (Plus Mode [PM])** als auch im **Schnellmodus (Easy Mode [EM])**: Siehe Kapitel 12) bedient werden.
- Für den Wechsel von EM zu PM drücken Sie den blauen **PlusMode**-Button rechts oben auf dem Display.
- Für den Wechsel von PM zu EM drücken Sie zuerst den **Haupt**-Button, dann den **Logout**-Button, dann unten links den blauen **Schnellmodus**-Button (EM).

»

- **Wichtig: Schalten Sie den Reader ein und lassen Sie ihn mindestens 30 Minuten vorwärmen! Der Reader ist so voreingestellt, dass die automatische Abschaltzeit deaktiviert ist, um eine konstante Inkubationstemperatur im Gerät zu gewährleisten.** Sollten Sie eine individuell definierte Abschaltzeit wünschen, können Sie diese ändern, wie unter Punkt 11.10 der EasyReader-Gebrauchsinformation beschrieben.
- Halten Sie Ihre **Leerwert-Kassette** (Blank Strip) bereit! Im Notfall kann auch eine frisch aus dem Folienbeutel entnommene Testkassette verwendet werden.

6. PROBENVORBEREITUNG

1. Beschriften Sie eine Tropfflasche mit Puffer mit der Proben-ID.
2. Öffnen Sie die Tropfflasche.
- 3a. **Plasma/Serum:** Geben Sie mithilfe einer Laborpipette 10 μl Probe in die Tropfflasche (Abb.1).
- 3b. **Vollblut (mit Antikoagulantz):** Geben Sie mithilfe einer Laborpipette 10 μl Probe in die Tropfflasche (Abb.1). Wiederholen Sie diesen Schritt mit einer neuen Pipettenspitze.
4. Verschließen Sie die Tropfflasche.
5. Mischen Sie die Proben-Puffer-Mischung (PPM) **kräftig** für 10 Sekunden (Abb.2).

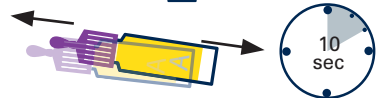


Abb.1

Plasma/
Serum: 10 μl

Vollblut:
2 \times 10 μl

Abb.2

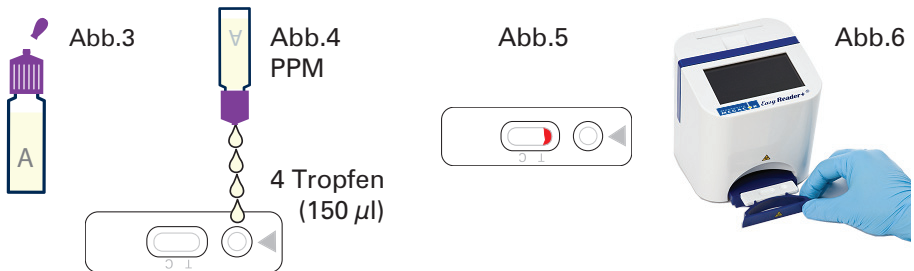


7. TESTDURCHFÜHRUNG

7.1. EM

1. Wählen Sie die gewünschte Test-Art (hier SAA).
2. Legen Sie wie gefordert die Leerwert-Kassette ein und entnehmen Sie diese nach erfolgreicher Leerwertmessung.
3. Tragen Sie die Patientendaten ein.
4. Wählen Sie **Countdown** oder **Sofort**.
Countdown: Der interne Timer des EasyReaders startet automatisch. Die Testkassette wird nach 5 Minuten Inkubationszeit ausgelesen. Der **Countdown** wird empfohlen, da im EasyReader eine konstante Inkubationstemperatur herrscht.
Sofort: Sie müssen die Inkubationszeit selbst mit einer Stoppuhr stoppen. Sobald die Zeit abgelaufen ist, legen Sie die Testkassette in den EasyReader-Testkassettenhalter und starten Sie die Sofortmessung (**Start**).
5. Entnehmen Sie die Testkassette erst kurz vor Gebrauch der Verpackung.
6. Beschriften Sie die Testkassette mit der Proben-ID.
7. Brechen Sie die Spitze der Tropfflasche mit der PPM ab (Abb.3).

8. Halten Sie die Tropfflasche **senkrecht** und geben Sie langsam 4 Tropfen ($150\ \mu\text{l}$) der PPM in das Probenfenster der Testkassette (Abb.4). Berührung der Testkassette und Blasenbildung vermeiden!
9. **Countdown:** Sobald der pink-purpurfarbene Lateral Flow im Ergebnisfenster sichtbar wird (Abb.5), legen Sie die Testkassette, mit dem Probenfenster rechts, sofort in den Testkassettenhalter (Abb.6) und schieben diesen in das Gerät. Die Inkubationszeit beginnt automatisch abzulaufen.
Sofort: Sobald der pink-purpurfarbene Lateral Flow im Ergebnisfenster sichtbar wird (Abb.5), starten Sie Ihre Stoppuhr mit der vorgegebenen Inkubationsdauer (5 Minuten). Nach Ablauf der Inkubationszeit legen Sie die Testkassette, mit dem Probenfenster rechts, sofort in den Testkassettenhalter (Abb.6) und schieben diesen in das Gerät. Achtung der EasyReader startet dann sofort mit der Messung!
10. Das Testergebnis (in mg/l) erscheint im Display und wird automatisch nach Ende der Inkubationszeit ausgedruckt.



7.2. PM (ist in der Grundeinstellung automatisch im Countdown)

1. Wählen Sie die gewünschte Test-Art (hier SAA).
2. Legen Sie wie gefordert die Leerwert-Kassette ein und entnehmen Sie diese nach erfolgreicher Leerwertmessung.
3. Entnehmen Sie die Testkassette erst kurz vor Gebrauch der Verpackung.
4. Beschriften Sie die Testkassette mit der Proben-ID.
5. Brechen Sie die Spitze der Tropfflasche mit der PPM ab (Abb.3).
6. Halten Sie die Tropfflasche **senkrecht** und geben Sie langsam 4 Tropfen ($150\ \mu\text{l}$) der PPM in das Probenfenster der Testkassette (Abb.4). Berührung der Testkassette und Blasenbildung vermeiden!
7. Sobald der pink-purpurfarbene Lateral Flow im Ergebnisfenster sichtbar wird (Abb.5), legen Sie die Testkassette, mit dem Probenfenster rechts, sofort in den Testkassettenhalter (Abb.6) und schieben diesen in das Gerät. Die Inkubationszeit beginnt automatisch abzulaufen.
8. Tragen Sie die Patientendaten ein.
9. Das Testergebnis (in mg/l) erscheint im Display und wird nach Ende der Inkubationszeit automatisch ausgedruckt.

7.3. SERIENTESTUNG MEHRERER PROBEN

- Es können mehrere Testkassetten parallel angesetzt werden. Jedoch wird empfohlen, jeweils denselben Parameter pro Testlauf zu testen.
- Jede Testkassette wird im Abstand von einer Minute gestartet. Sowohl die Gesamtreaktionszeit als auch die Verzögerung zwischen den einzelnen Testkassetten müssen genau eingehalten werden (Stoppuhr!).
- Das Testergebnis sollte exakt zum Ende der Inkubationszeit gemessen werden, um ein zuverlässiges Testergebnis zu erhalten.

7.3.1 EM

- Für die Testung mehrerer Proben müssen Sie einen externen Timer (Stoppuhr) verwenden. Zudem müssen Sie **Sofort** am Gerät auswählen.

7.3.2 PM

- Zur Serientestung im PM müssen Sie zuerst unter Einstellungen » QC-Optionen den **Schnellmodus** aktivieren und bestätigen. Dann im Messmenü den Haken bei **Umgehend** setzen.

8. ABLESEN DES TESTERGEBNISSES

Das Testergebnis (in mg/l) erscheint im Display und wird automatisch nach Ende der Inkubationszeit ausgedruckt.

Der quantitative Messbereich beträgt 5–75 mg/l. Die außerhalb dieses Bereiches angegebenen SAA-Konzentrationen werden in Messbereiche zusammengefasst (siehe Tabelle 8.1).

SAA-Konzentration	Reader-Ergebnisse
0–5 mg/l	< 5 mg/l
5–75 mg/l	Quantitatives Ergebnis
75–150 mg/l	75–150 mg/l
> 150 mg/l	> 150 mg/l

Tabelle 8.1

9. WEITERVERDÜNNUNG BEI ERGEBNIS ÜBER 75 MG/L

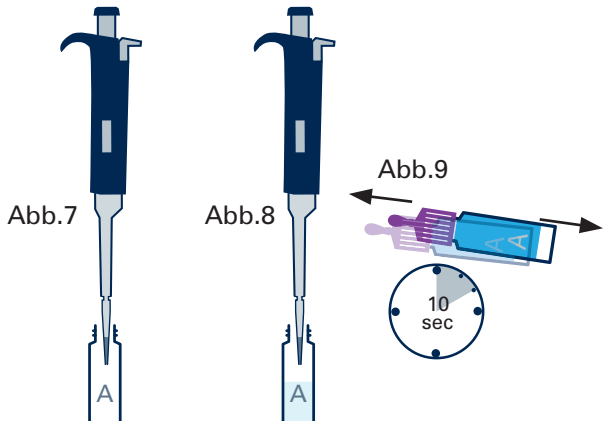
Sollte die SAA-Konzentration der Probe über 75 mg/l liegen, wird eine zweite Messung mit einer verdünnten Probe empfohlen, um wieder in den quantitativen Messbereich zu kommen. Das Ergebnis der verdünnten Probe muss mit dem jeweiligen Verdünnungsfaktor verrechnet werden (siehe Tabelle 9.2).

Reader-Ergebnis (Grundverdünnung)	Verdünnungsstufe	Zugabe von Puffer in leerer Tropfflasche	PPM	Endverdünnung	Testergebnis Reader und Berechnung
< 5 mg/l	nicht notwendig				
5–75 mg/l	nicht notwendig				
75–150 mg/l	1:3 (entspricht 1+2)	400 µl	200 µl	1:600	x mg/l × 3
> 150 mg/l	1:5 (entspricht 1+4)	800 µl	200 µl	1:1000	x mg/l × 5

Tabelle 9.2

Probenvorbereitung Verdünnung

1. Beschriften Sie eine **leere** Tropfflasche mit der Proben-ID.
2. Öffnen Sie die **leere** Tropfflasche.
3. Für eine 1:3 Verdünnung nehmen Sie eine neue mit Puffer befüllte Tropfflasche. Öffnen Sie diese und geben Sie daraus 400 µl Puffer in die leere Tropfflasche (Abb.7). Für eine 1:5 Verdünnung geben Sie 800 µl Puffer in die leere Tropfflasche.
4. Nehmen Sie nun dieselbe Pipettenspitze und entnehmen Sie 200 µl aus Ihrem ursprünglichen Probenansatz. Geben Sie diese 200 µl in die bereits mit 400 µl (1:3 Verdünnung) oder 800 µl (1:5 Verdünnung) Puffer befüllte Tropfflasche (Abb.8).
5. Verschließen Sie die Tropfflasche gut.
6. Mischen Sie die PPM **kräftig** für 10 Sekunden (Abb.9).
7. Führen Sie den Test wie unter Kapitel 7 „Testdurchführung“ beschrieben durch. Multiplizieren Sie das angezeigte Ergebnis mit dem Verdünnungsfaktor (siehe Tabelle 9.2).



10. INFORMATIONEN ZUR TESTAUSWERTUNG

Katze

- SAA-Wert unter 10 mg/l → Krankheiten/Störungen sind unwahrscheinlich (1, 2)
- Erhöhte SAA-Werte:
 - Verletzung: Mittelwert 62 mg/l
 - Niereninsuffizienz: Mittelwert 31 mg/l
 - Infektiöse Erkrankung: Mittelwert 48 mg/l
 - Tumoren: Mittelwert 17 mg/l

Pferd

- SAA-Wert unter 30 mg/l → Systemische Entzündung unwahrscheinlich
- SAA-Wert zwischen 37 und 1609 mg/l (Mittelwert 343 mg/l) → Lokale Entzündung wahrscheinlich
- SAA-Wert zwischen 688 und 4000 mg/l (Mittelwert 1583 mg/l) → Systemische Entzündung entwickelt sich und erfordert Aufmerksamkeit (3)

11. LEISTUNGSMERKMALE

a) Genauigkeit

Eine Studie wurde mit vorab untersuchten SAA-Hundeproben durch serielle Verdünnung in einem SAA-freien Serum durchgeführt, die einen SAA-Bereich von 0–150 mg/l abdecken.

Die Optische Dichte als Funktion der SAA-Konzentration wird durch folgende Kurve beschrieben: $Y = 0,0002x^3 - 0,0832x^2 + 10,929x - 13,591$ ($r^2 = 1$)

b) Sensitivität

Der **SAA-CHECK-1** Test kann eine SAA-Konzentration von 5 mg/l erkennen.

c) Präzision

37 Katzenseren und 30 Pferdeseren wurden mittels ROCHE Cobas-Analyser und **SAA-CHECK-1** quantitativ bestimmt. Die ermittelten Ergebnisse zeigen einen Korrelationskoeffizienten von 94,8 % (Katzenseren) und 87,4 % (Pferdeseren).

d) Hook-Effekt

SAA-Proben mit einer Konzentration bis 600 mg/l zeigten stets Ergebnisse „> 150 mg/l“.

e) Intraassay-Reproduzierbarkeit

Die Präzision innerhalb einer Lot wurde mit 3 vorgetesteten Serumproben in 25 Wiederholungen mit 13,4 mg/l, 26 mg/l und 58 mg/l SAA bewertet. Die erhaltenen CV's (Variationskoeffizient) betragen 12,7 %, 8,1 % und 6,7 %.

12. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Beschriften Sie Probenmaterial und zugehörige Tropfflasche und Testkassette, damit die exakte Zuordnung gewährleistet ist.
- Für jede Probe eine neue Pipettenspitze und eine neue Tropfflasche verwenden.
- Die Pufferlösung enthält geringgradige Konzentrationen an toxischem Natriumazid als Konservierungsmittel. Haut-/Augenkontakt und/oder Ingestion sind unbedingt zu vermeiden!
- Das Probenmaterial muss als potentiell infektiös angesehen werden und ist mit den verwendeten Testkitkomponenten nach der Testdurchführung fachgemäß zu entsorgen.
- Tragen von Schutzkleidung (Einmal-Handschuhe) und Händewaschen nach Ende der Testdurchführung.
- Essen, Trinken und Rauchen während der Testdurchführung verboten.
- Jeglichen Kontakt zwischen Händen, Augen oder Nase während der Probennahme und der Testdurchführung vermeiden.

13. LITERATUR

1. Sasaki, K., Zhiyong, M.A., Khatlani, T.S, Okuda, M., Inokuma, H. and Onishi, T. Evaluation of Feline Serum Amyloid (SAA) as an inflammatory Marker. 2003. J. Vet. Med. Sci. 65(4), 545-548.
2. Charlier, M. Determination d'un intervalle de référence de la sérum amyloïde A mesurée par Le Solo chez le chat sain. 2018. Thèse d'état Tou3 – 4023. p21.
3. Nolen-Walston, Rose. How to interpret Serum Amyloid A Concentrations. AAEP Proceedings. 2015. 61, 130-137.

1. INFORMATION ON THE TEST-KIT



1.1. TEST-KIT COMPONENTS

1 test-kit **SAA-CHECK-1** contains:

1. 10 or 20 test cassettes, coated with monoclonal antibodies
2. 10 or 20 dropper bottles **A** with 2.0 ml buffer diluent each
3. 5 or 10 dropper bottles **A** (without buffer diluent)
4. 20 or 40 pipette tips (10 μ l)
5. 5 or 10 pipette tips (200 μ l)
6. 1 instructions for use

1.2. STABILITY AND STORAGE



Store at
15–25°C



Expiry date
– see label



For veterinary use only



Lot number



In vitro diagnosticum



Do not use test-kit components from different kits, lot numbers or beyond stated expiry date



Follow instructions for use carefully

1.3. LIABILITY

The entire risk due to the performance of this product is assumed by the purchaser. The manufacturer shall not be liable for indirect, special or consequential damages of any kind resulting from the use of this product.

2. INTRODUCTION

As response to tissue injury and inflammation, the body produces, among others, so-called acute-phase proteins (APP) in the liver. The Serum Amyloid A (SAA) is an important APP in many species, with low serum concentrations during normal homeostasis and a quick answer during and after inflammation.

The physiological SAA concentration in the cat is below 10 mg/l, in the horse below 30 mg/l. A drastic increase in the SAA level up to over 1000 times occurs within few hours (4–6 hours, peak 36 to 48 hours later) due to inflammations, infections, traumata or wound healing disorders (horse). As soon as the inflammation subsides through a successful therapy, the SAA concentration decreases (half-life 24–48 hours).

The veterinary SAA measurement in blood allows not only the determination of clinical or subclinical inflammations, but also a reliable monitoring of course and therapy. Another advantage of the SAA determination is its independence to antibiotic, glucocorticoids or stress.

3. TEST PRINCIPLE

SAA-CHECK-1 is a rapid test for the quantitative determination of Serum Amyloid A in whole blood, plasma or serum of the cat and horse.

By the combination of mobile conjugate-bound antibodies and membrane-bound antibodies, the SAA concentration in the sample is determined with a high degree of sensitivity.

Depending on SAA concentration in the sample, a test and a control line of different intensity will appear. They can be evaluated quantitatively **only with EasyReader®**.

4. INFORMATION ON THE SAMPLE MATERIAL

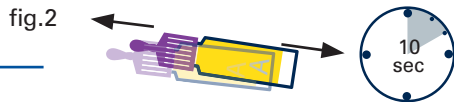
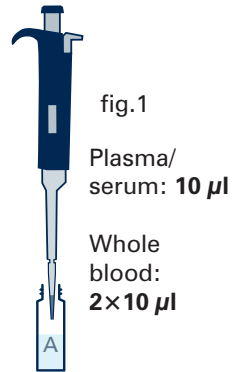
- The sample material should be collected under the standard laboratory conditions (aseptic, non-hemolytic, lipaemic or icteric).
 - **SAA-CHECK-1** can be performed with anticoagulated (EDTA, citrate or heparin) whole blood, plasma or serum of the dog. **Native blood (whole blood without anticoagulant) should not be used!**
 - **ATTENTION:** Partially filled and/or insufficient mixed EDTA, Citrate or Heparin tubes could create interference effects (overdose of anticoagulant) resulting in un-specific test results.
 - **Whole blood (with anticoagulant) must be tested within 4 hours.**
 - **ATTENTION:** At **15–25°C**, plasma or serum can be stored up to 24 hours. If the test is to be run after 24 hours, the sample should be stored at minimum **–20°C**. **Do not store in the fridge!** Avoid repeated freezing and thawing.
 - Mix the sample material well before use!
 - Keep in mind that the sample material, as well as all used test-kit components, should have reached room temperature (15–25°C) at the time of application.
-

5. EASYREADER® PREPARATION

- Before starting with sample preparation/test procedure, please read the Instructions for use of the Reader! The Reader can be used in **Plus Mode (PM)** and in **Easy Mode (EM)**: see chapter 12).
- For switching from EM to PM, press the blue **Plus Mode** button in the upper right of the display.
- For switching from PM to EM, first press the **Main** button, then the **Logout** button, then in the bottom left the blue **Immediate** button.
- **Important: Switch the Reader on and allow it to warm up for at least 30 minutes! The Reader is preset so that the automatic swith-off time is deactivated to guarantee a constant incubation temperature in the Reader.** If you wish a defined switch-off time, you can change it as described in chapter 11.10 of the Reader's instructions for use.
- Have the **blank device** ready! In an emergency, a test cassette freshly removed from the foil pouch can also be used.

6. SAMPLE PREPARATION

1. Label one dropper bottle containing buffer diluent with animal's ID.
2. Unscrew the dropper bottle.
- 3a. **Plasma / serum:** Add 10 μl of sample with help of the laboratory pipette into the dropper bottle (fig.1).
- 3b. **Whole blood (with anticoagulant):** Add 10 μl of sample with help of the laboratory pipette into the dropper bottle (fig.1). Repeat this step with a new pipette tip.
4. Replace the screw cap on the dropper bottle.
5. Mix the sample-buffer mixture (SBM) **strongly** by inverting the dropper bottle upside-down several times for 10 seconds (fig.2).



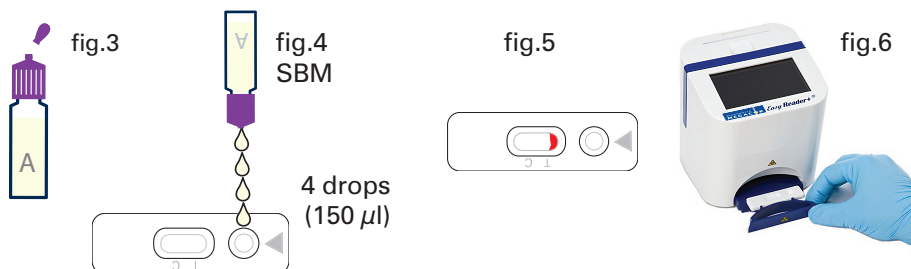
7. TEST PROCEDURE

7.1. EM

1. Choose the desired test type (here SAA).
2. Insert the blank cassette as required and remove it after successful blank measurement.
3. Enter patient's data into the Reader.
4. Choose **Countdown** or **Immediate**.
 - Countdown:** The internal timer of the EasyReader starts automatically. The test cassette is read after 5 minutes incubation time. **Countdown** is recommended, because the EasyReader has a constant incubation temperature inside.
 - Immediate:** You have to stop the incubation time yourself with a stop watch. As soon as the time is ready, place the test cassette into the test cassette holder and start the immediate measurement (**Start**).
5. Remove the test cassette from the foil pouch shortly before use.
6. Label the test cassette with the ID of the animal.
7. Break the tip of the dropper bottle containing the SBM (fig.3)
8. Hold the dropper bottle **vertically** and slowly add 4 drops (150 μl) of SBM into the sample window of the test cassette (fig.4). Avoid bubbles and touching the test cassette!
9. **Countdown:** As soon as the pink-purple lateral flow is visible in the result window (fig.5), place the test cassette, with sample window on the right, immediately into the test cassette holder (fig.6) and place this into the Reader. Incubation time starts running automatically.
 - Immediate:** As soon as the pink-purple lateral flow is visible in the result window (fig.5), start your stop watch with the indicated incubation time (5 minutes). After

the incubation time, place the test cassette, with sample window on the right, immediately into the test cassette holder (fig.6) and place this into the Reader. Attention! The EasyReader immediately starts the measurement!

- The test result (in mg/l) can be read after 5 minutes directly on the Reader and is printed automatically after finishing the incubation time.



7.2. PM (is automatically in Countdown by default)

- Choose the desired test type (here SAA).
- Insert the blank cassette as required and remove it after successful blank measurement.
- Remove the test cassette from the foil pouch shortly before use.
- Label the test cassette with the ID of the animal.
- Break the tip of the dropper bottle containing the SBM (fig.3)
- Hold the dropper bottle **vertically** and slowly add 4 drops (150 μ l) of SBM into the sample window of the test cassette (fig.4). Avoid bubbles and touching the test cassette!
- As soon as the pink-purple lateral flow is visible in the result window (fig.5), place the test cassette, with sample window on the right, immediately into the test cassette holder (fig.6), place this into the Reader and press **Start**. Incubation time starts running automatically.
- Enter patient's data into the Reader.
- The test result (in mg/l) can be read after 5 minutes directly on the Reader and is printed automatically after finishing the incubation time.

7.3. SERIAL TESTING OF SEVERAL SAMPLES

- Several tests can be scheduled at the same time. However, it is recommended that you test the same parameter for each test run.
- Each test cassette is started one minute after the other. The whole reaction time as well as the delay between the single test cassettes must be followed exactly (stop watch!).

- The test result must be measured exactly at the end of the incubation time to get a reliable test result.

7.3.1 EM

- For the testing of several samples, it is recommended to use an external timer (stop watch). **Immediate** must be activated on the Reader (see instructions for the Reader).

7.3.2 PM

- For serial testing in PM, first you have to activate and confirm **Immediate** in the menu Settings » QC Options. Then, in the measurement menu, tick the box **Immediate**.

8. READING OF THE TEST RESULT

The test result (in mg/l) can be read after 5 minutes directly on the Reader and is printed automatically after finishing the incubation time.

The quantitative measuring range is 5–75 mg/l. The SAA concentrations reported outside this range are summarised in ranges (see table 8.1).

SAA concentration	Reader results
0–5 mg/l	< 5 mg/l
5–75 mg/l	Quantitative results
75–150 mg/l	75–150 mg/l
> 150 mg/l	> 150 mg/l

Table 8.1

9. FURTHER DILUTION WITH RESULT ABOVE 75 MG/L

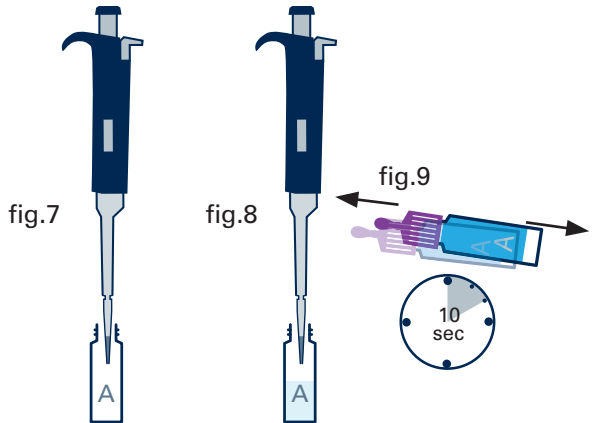
If the SAA concentration of the sample is above 75 mg/l, a second measurement with a diluted sample is recommended to return to the quantitative range. The result of the diluted sample must be calculated using the respective dilution factor (see table 9.2).

Reader result	dilution stage	addition of buffer diluent into empty drop-per bottle	SBM	final dilution	Test result Reader and calculation
< 5 mg/l	not necessary				
5–75 mg/l	not necessary				
75–150 mg/l	1:3 (corresponds to 1+2)	400 µl	200 µl	1:600	x mg/l × 3
> 150 mg/l	1:5 (corresponds to 1+4)	800 µl	200 µl	1:1000	x mg/l × 5

Table 9.2

Sample preparation of dilution

1. Label one **empty** dropper bottle with animal's ID.
2. Unscrew the **empty** dropper bottle.
3. For a 1:3 dilution, take a new, buffer diluent-filled dropper bottle. Open it and add 400 μl of buffer diluent into the empty dropper bottle (fig.7). For a 1:5 dilution, add 800 μl of buffer diluent into the empty dropper bottle.
4. Take the same pipette tip and remove 200 μl from the original sample-buffer mixture (SBM). Add these 200 μl into the dropper bottle already filled with 400 μl (1:3 dilution) or 800 μl (1:5 dilution) buffer diluent (fig.8).
5. Replace the screw cap on the dropper bottle.
6. Mix the SBM **strongly** by inverting upside-down the bottle several times for 10 seconds (fig.9).
7. Perform the test as described in chapter 7 "test procedure". Multiply the specified result with the respective dilution factor (see table 9.2).



10. INFORMATION FOR THE INTERPRETATION

Cat

- SAA level below 10 mg/l → diseases/disorders are unlikely (1, 2).
- Elevated SAA levels:
 - Injury: mean value 62 mg/l
 - Renal failure: mean value 31 mg/l
 - Infectious diseases: mean value 48 mg/l
 - Tumours: mean value 17 mg/l

Horse

- SAA level below 30 mg/l → systemic inflammation is unlikely
- SAA level within 37 and 1,609 mg/l (mean value: 343 mg/l) → local inflammation is probable.
- SAA level within 688 and 4,000 mg/l (mean value: 1,583 mg/l) → systemic inflammation is developing and requires attention (3).

11. FEATURES OF PERFORMANCE

a) Accuracy

A study has been performed using pre-assayed SAA canine samples by serial dilution in a SAA depleted serum and covering a SAA range of 0–150 mg/l.

Optical densities expressed as a function of SAA concentrations are described by following curve: $Y = 0.0002x^3 - 0.0832x^2 + 10.929x - 13.591$ ($r^2 = 1$)

b) Sensitivity

The **SAA-CHECK-1** test is detecting SAA concentration of 5 mg/l.

c) Precision

37 cat serum samples and 30 horse serum samples were assayed using the ROCHE Cobas analyser and **SAA-CHECK-1** quantitative test. The obtained results show a correlation coefficient of 94.8% (cat samples) and 87.4% (horse samples).

d) Hook effect

Samples having a SAA concentration up to 600 mg/l constantly showed "> 150 mg/l" results.

e) Intra assay reproducibility

Intralot precision was evaluated running 25 replicates of 3 pre-assayed serum samples containing 13.4 mg/l, 26 mg/l and 58 mg/l of SAA. The obtained CV's (coefficient of variation) are 12.7%, 8.1% and 6.7%, respectively.

12. PRECAUTIONS

- Label sample material and associated dropper bottle and test cassette to ensure a precise assignment.
- Use a new pipette tip and a new dropper bottle for each sample.
- The buffer diluent contains low concentrations of toxic sodium azide as a preservative, therefore avoid skin/eye contact and/or ingestion.
- The sample material must be seen as potentially infectious and disposed of accordingly, together with the used test-kit components.
- Wear protective clothing such as laboratory coats and disposable gloves while assaying samples. Wash the hands after finishing the test procedure.
- Do not eat, drink or smoke in the area where samples and kit reagents are handled.
- Avoid any contact between hands and eyes or nose during sample collection and testing.

13. LITERATURE

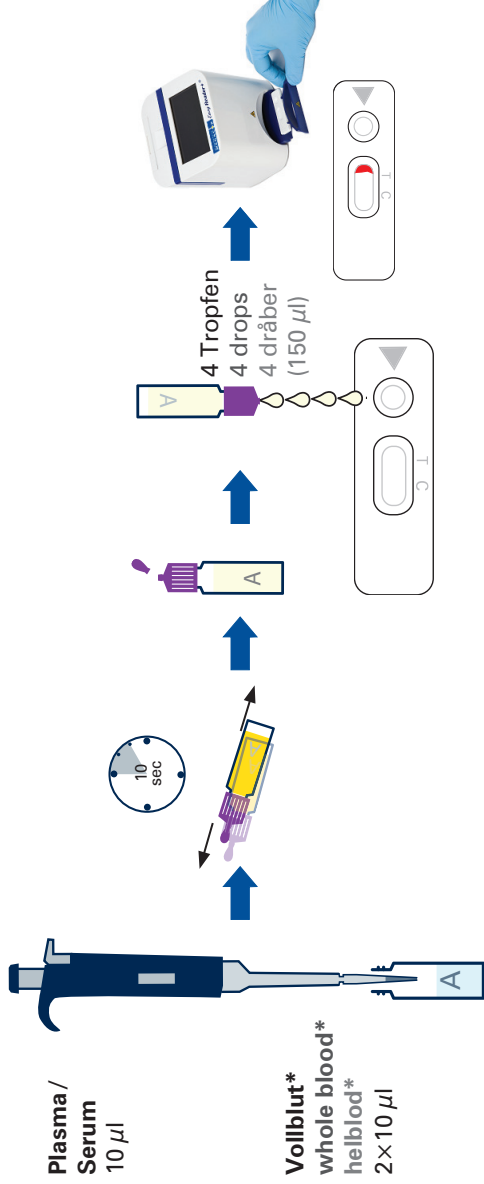
1. Sasaki, K., Zhiyong, M.A., Khatlani, T.S, Okuda, M., Inokuma, H. and Onishi, T. Evaluation of Feline Serum Amyloid (SAA) as an inflammatory Marker. 2003. J. Vet. Med. Sci. 65(4), 545-548.
2. Charlier, M. Determination d'un intervalle de référence de la sérum amyloïde A mesurée par Le Solo chez le chat sain. 2018. Thèse d'état Tou3 – 4023. p21.
3. Nolen-Walston, Rose. How to interpret Serum Amyloid A Concentrations. AAEP Proceedings. 2015. 61, 130-137.

FÜR IHRE EIGENEN NOTIZEN / FOR YOUR OWN NOTES

SAA-CHECK-1 ad us. vet.

Inhalt	Seite
1. Informationen zum Testkit	2
2. Einleitung	2
3. Testprinzip	3
4. Informationen zum Probenmaterial	3
5. EasyReader® Vorbereitung	3
6. Probenvorbereitung	4
7. Testdurchführung	4
8. Ablesen des Testergebnisses	6
9. Weiterverdünnung bei Ergebnis über 75 mg/l	6
10. Informationen zur Testauswertung	8
11. Leistungsmerkmale	8
12. Vorsichtsmaßnahmen	9
13. Literatur	9
Contents	Page
1. Information on the test-kit	10
2. Introduction	10
3. Test principle	11
4. Information on the sample material	11
5. EasyReader® preparation	11
6. Sample preparation	12
7. Test procedure	12
8. Reading of the test result	14
9. Further dilution with result above 75 mg/l	14
10. Information for the interpretation	15
11. Features of performance	16
12. Precautions	16
13. Literature	17
Für Ihre eigenen Notizen / For your own notes	18
Inhaltsverzeichnis / Table of contents	19
Kurz-Gebrauchsinformation / Short instructions for use	20

Easy Reader SAA-CHECK-1 TEST PROCEDURE



* gerinnungsgehemmtes Vollblut (EDTA, Heparin, Citrat)

* anticoagulated whole blood (EDTA, heparin, citrate)

* anti koaguleret helblod (EDTA, heparin, citrat)