

***Diese Kurzanleitung ist ein Auszug aus der Arbeitsanleitung:
This short manual is an excerpt of the manual:***

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

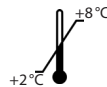
selenOtest ELISA

***Zur In-vitro-Bestimmung von Selenoprotein P in Serum
For the in vitro determination of selenoprotein P in serum***

Gültig ab / Valid from 2026-03-18 REV003

REF YC5900

Σ 96



IVD

CE 2797

REF YC5900.20

Σ 20x96

+2°C



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

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

E-mail: info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

Inhalt

1. ZWECKBESTIMMUNG	3
2. EINLEITUNG	3
3. MITGELIEFERTE MATERIALIEN	4
4. BENÖTIGTE MATERIALIEN (IM KIT NICHT ENTHALTEN)	5
5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIIEN	5
6. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER PROBEN	7
6.1 Probennahme	7
6.2 Probenlagerung	7
6.3 Probenverdünnung	7
7. TESTDURCHFÜHRUNG	8
7.1 Testprinzip	8
7.2 Automatische Abarbeitung	8
7.3 Manuelle Abarbeitung	8
8. SICHERHEITSHINWEISE	9
9. LITERATUR	10
10. SYMBOLERKLÄRUNGEN	11

Wichtiger Hinweis

Die vorliegende Anleitung stellt eine Kurzanleitung zur Testvorbereitung und -durchführung dar. **Sie ersetzt nicht die vollständige Arbeitsanleitung.**

1. ZWECKBESTIMMUNG

Der selenOtest ELISA ist ein Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) für den quantitativen Nachweis von Selenoprotein P in humanem Serum. Der Test ist ein *In-vitro*-Diagnostikum und für die Verwendung durch professionelles Fachpersonal in Laborumgebung bestimmt. Er kann manuell oder mit einer automatisierten Plattform durchgeführt werden. Er dient der Überwachung des funktionellen Selenstatus bei Personen mit Verdacht auf einen Selenmangel oder -überschuss und kann als Unterstützung bei der differenzierten Beurteilung des Selenstatus auch im Rahmen einer Therapie des Selenmangels durch Selensupplementierung verwendet werden.

2. EINLEITUNG

Selenoprotein P (SELENOP) ist ein multifunktionales Glykoprotein, das im menschlichen Körper eine zentrale Rolle im Selenstoffwechsel einnimmt [1, 2]. Es gehört zur Familie der Selenoproteine, die als essenziellen Bestandteil Selen in Form der Aminosäure Selenocystein enthalten [3].

Die Hauptaufgabe von SELENOP besteht darin, den Transport und die Verteilung von Selen aus der Leber in periphere Gewebe sicherzustellen, insbesondere in das Gehirn und die endokrinen Drüsen, die einen hohen Selenbedarf aufweisen. Zusätzlich besitzt SELENOP antioxidative und protektive Eigenschaften. Bei einem SELENOP Mangel wurden im Tiermodell reduziertes Wachstum, Infertilität der Männchen und ausgeprägte Neurodegeneration mit epileptischen Anfällen beobachtet [4].

Selen wird hauptsächlich über die Nahrung aufgenommen, wobei selenreiche Lebensmittel wie Fisch, Fleisch, Eier und Milch die primären Quellen darstellen. Nach der Absorption im Darm wird Selen hauptsächlich in der Leber in Form von Selenocystein in die Synthese von Selenoproteinen wie SELENOP eingebaut. Hierbei stellt die Selenverfügbarkeit in den Hepatozyten den wichtigsten limitierenden Faktor dar [5].

Ein unausgeglichener SELENOP-Status wirkt sich negativ auf das Immunsystem, die Schilddrüsenachse sowie die kognitive und muskuloskeletale Leistungsfähigkeit aus. Zudem steigt bei SELENOP-Mangel das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse (Schlaganfall, Herzinfarkt) und Tumorerkrankungen (besonders Leber, Darm und Niere) an [6]. Ein erhöhter SELENOP-Status dient als Indikator einer Selenvergiftung (Selenose), die sich durch Symptome wie Übelkeit, Haarausfall, brüchige Finger- und Fußnägel und neurologische Symptome wie Kribbeln oder Konzentrationsstörungen äußern kann [7].

Sowohl Mangel als auch Überschuss beeinträchtigen die antioxidative Abwehr, die Hormonachsen, das Immunsystem und die Funktion lebenswichtiger Organe. Eine regelmäßige Überwachung des Selenstatus ist daher eine sinnvolle Diagnostik

für die Kontrolle und Anpassung der personalisierten Versorgung, den Schutz vor degenerativen Prozessen und damit für die Erhaltung der Gesundheit [8].

3. MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Art.-Nr.	Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge	
			YC5900	YC5900.20
YC5900	PLATE	Mikrotiterplatte, vorbeschichtet	12 x 8 Vertiefungen	20 x 12 x 8 Vertiefungen
	AB	Detektionsantikörperkonzentrat	1 x 300 µl	10 x 300 µl
	STD	Standardkonzentrat, lyophilisiert (Konzentration der Produktspezifikation entnehmen)	4 x vial	20 x vial
	CTRL 1	Kontrolle, lyophilisiert (Bereich der Produktspezifikation entnehmen)	4 x vial	20 x vial
	CTRL 2	Kontrolle, lyophilisiert (Bereich der Produktspezifikation entnehmen)	4 x vial	20 x vial
	SAMPLEBUF	Probenverdünnungspuffer, gebrauchsfertig	1 x 40 ml	6 x 100 ml
	REABUF	Antikörperverdünnungspuffer, gebrauchsfertig	4 x 6 ml	3 x 90 ml
K 0001.C.100	WASHBUF	Waschpufferkonzentrat, 10x	2 x 100 ml	20 x 100 ml
K 0005.15	RECSOL	Rekonstitutionslösung, gebrauchsfertig	1 x 15 ml	5 x 15 ml
K 0002.15	SUB	Substrat (Tetramethylbenzidin), gebrauchsfertig	1 x 15 ml	20 x 15 ml
K 0003.15	STOP	Stopplösung, gebrauchsfertig	1 x 15 ml	20 x 15 ml

4. BENÖTIGTE MATERIALIEN (IM KIT NICHT ENTHALTEN)

- Reinstwasser (Leitfähigkeit $\leq 0,055 \mu\text{S}/\text{cm}$ bei 25°C , Partikelgröße $\leq 0,2 \mu\text{m}$)
- Laborübliche Reaktionsgefäße aus Polypropylen 1,5 ml (Einmalartikel)
- Kalibrierte Präzisionspipetten und Pipettenspitzen für den Einmalgebrauch mit variablen Volumina von 10–1 000 μl
- Mikrotiterplattenphotometer mit Filter 450 nm, optional mit Referenzwellenlänge (620 nm))
- Kalibrierte Multikanal- bzw. Multipipette mit Pipettenspitzen für den Einmalgebrauch mit variablen Volumina von 100–1 000 μl
- Vortex-Mixer ohne spezifische Anforderungen

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**.
- **Vorbereitung des Waschpuffers:** Das **Waschpufferkonzentrat (WASHBUF)** muss vor Gebrauch **1:10** in Reinstwasser verdünnt werden (z. B. 100 ml WASHBUF + 900 ml Reinstwasser), gut mischen. Aufgrund des hohen Salzgehalts im Konzentrat kann es zu Kristallbildungen kommen, die vor der Verdünnung aufgelöst werden müssen. Die Kristalle lösen sich bei Raumtemperatur ($15\text{--}30^\circ\text{C}$) bzw. im Wasserbad bei 37°C auf. Der bei **2–8 °C gelagerte WASHBUF** kann bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden. Der **Waschpuffer** (1:10 verdünnter WASHBUF) ist **1 Monat bei 2–8 °C** in einem geschlossenen Gefäß haltbar.
- Das **lyophilisierte Standardkonzentrat (STD)** und die lyophilisierten **Kontrollen (CTRL)** sind, bei **2–8 °C** gelagert, bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. **STD** und **CTRL** mit **x μl RECSOL** rekonstituieren (x= siehe Spezifikation), mindestens 5 min bei Raumtemperatur stehen lassen und mittels Vortex-Mixer gründlich mischen. Der Gehalt an Selenoprotein P ändert sich geringfügig von Charge zu Charge, der genaue Gehalt ist auf der Produktspezifikation angegeben. Die Kontrollen sind nach dem Rekonstituieren gebrauchsfertig und es bedarf keiner weiteren Verdünnung.
- **Standards und Kontrollen (STD und CTRL)** sind geöffnet, rekonstituiert oder als Arbeitslösung mindestens über einen Arbeitstag (**bis zu 12 Stunden**) bei $\leq 28^\circ\text{C}$ stabil.

- **Vorbereitung des Detektionsantikörpers: 50 µl Detektionsantikörperkonzentrat (AB)** werden vor Gebrauch in ein Fläschchen mit **6 ml Antikörperverdünnungspuffer (REABUF)** pipettiert. Anschließend das Fläschchen verschließen und durch 4 bis 5-maliges sanftes Schwenken mischen. Diese Lösung ist mindestens über einen Arbeitstag (**bis zu 12 Stunden**) bei $\leq 28^{\circ}\text{C}$ stabil.
- So viele Mikrotiterstreifen aus dem Kit entnehmen, wie benötigt werden. Nach dem Öffnen der vakuumdichten Aluminiumverpackung alle unbenutzten Streifen zusammen mit dem Trockenmittelbeutel in der verschlossenen Aluminiumverpackung bei **2–8 °C** lagern. Die Streifen sind so bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar.
- Substratlösung muss vor Gebrauch farblos sein.
- Schaumbildung beim Mischen der Reagenzien vermeiden.
- Alle anderen Testreagenzien sind gebrauchsfertig und, bei **2–8 °C** gelagert, bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum (siehe Etikett) verwendbar.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf der Kitverpackung angegebenen Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.
- 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.
- Stopfen und Verschlüsse verschiedener Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Qualitätskontrollen müssen immer mitgemessen werden.

Herstellung der Standardkurve

- In 6 Reaktionsgefäßen (Fassungsvermögen 1,5 ml) wird aus dem rekonsituierten **Standardkonzentrat (STD)** und dem **Probenverdünnungspuffer (SAMPLEBUF)** eine Standardkurve nach folgendem Schema hergestellt:

SELENOP [µg/l]	SAMPLEBUF [µl]	+	Standard- konzentrat [µl]	=	Gesamtvolumen [µl]
Standard 1: 0	500	+	0	=	500
Standard 2: 15	490	+	10	=	500
Standard 3: 30	480	+	20	=	500
Standard 4: 60	460	+	40	=	500
Standard 5: 120	420	+	80	=	500
Standard 6: 240	340	+	160	=	500

6. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER PROBEN

6.1 Probennahme

Die Entnahme und Aufbereitung von Serum hat mit entsprechenden Blutentnahmeröhrchen gemäß den Anweisungen des Herstellers zu erfolgen.

Blutentnahmeröhrchen, die flüssige Antikoagulanzen enthalten, haben einen Verdünnungseffekt, was zu niedrigeren Werten für Patientenproben führt. Um Verdünnungseffekte zu minimieren, ist es wichtig, dass die entsprechenden Blutentnahmeröhrchen gemäß den Anweisungen des Herstellers vollständig befüllt werden.

6.2 Probenlagerung

Proben können bis zu 1 Tag bei $\leq 25^{\circ}\text{C}$, 8 Tage bei $2\text{--}8^{\circ}\text{C}$ oder 6 Monate bei -20°C gelagert werden. Bis zu 3 Gefrier-Auftau-Zyklen haben keinen Einfluss auf die gemessene Selenoprotein P Konzentration der Probe.

6.3 Probenverdünnung

Die Proben werden 1:41 mit **Probenverdünnungspuffer (SAMPLEBUF)** verdünnt:

z.B. **10 µl** Probe + **400 µl** SAMPLEBUF

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

7. TESTDURCHFÜHRUNG

7.1 Testprinzip

Bei diesem Assay handelt es sich um einen Sandwich-ELISA für die quantitative Messung von humanem Selenoprotein P in Serum.

Die Vertiefungen der Mikrotiterplatte sind mit einem monoklonalen Anti-Selenoprotein P-Antikörper beschichtet. Während des ersten Inkubationsschritts wird in der Probe vorhandenes Selenoprotein an den immobilisierten Antikörper gebunden, wodurch der erste Antigen-Antikörper-Komplex gebildet wird. Nach einem Waschschrift zur Entfernung aller ungebundenen Probenbestandteile wird ein mit Meerrettichperoxidase (HRP) markierter Nachweisantikörper hinzugefügt. Es bildet sich ein Fänger-Antikörper-Antigen-Detektionsantikörper-Komplex. Ungebundene Bestandteile werden durch einen weiteren Waschschrift entfernt. Nach Zugabe eines enzymatischen Reaktionssubstrats (Tetramethylbenzidin, TMB) katalysiert HRP die Oxidation des farblosen TMB zu blauem, oxidiertem TMB. Die Reaktion wird durch Zugabe einer sauren Stopplösung beendet und die Farbe wechselt von blau nach gelb. Die Intensität der gelben Farbe ist direkt proportional zur Konzentration von SELENOP. Die Ergebnisse werden anhand einer Standardkurve bestimmt.

7.2 Automatische Abarbeitung

Für eine automatisierte Abarbeitung des Tests müssen, um technischen Gegebenheiten gerecht zu werden, automaten-spezifische Anpassungen in der Testprozedur gemacht werden. Für Unterstützung und Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihren Anbieter oder die Immundiagnostik AG.

7.3 Manuelle Abarbeitung

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

Die Positionen für Standards/Proben/Kontrollen im Protokollblatt markieren.

Die benötigten Mikrotiterstreifen aus dem Kit entnehmen.

Das Pipettieren von Standards/Proben/Kontrollen ist in Doppelwerten durchzuführen.

1.	100 µl Standards/Kontrollen/verdünnte Proben in die jeweiligen Vertiefungen pipettieren.
2.	45 min bei Raumtemperatur (15–30 °C) inkubieren.
3.	Inhalt der Vertiefungen verwerfen und 5 x mit je 250 µl Waschpuffer waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
4.	100 µl Detektionsantikörper (mit REABUF verdünnter AB) in jede Vertiefung pipettieren.
5.	30 min bei Raumtemperatur (15–30 °C) inkubieren.
6.	Inhalt der Vertiefungen verwerfen und 5 x mit je 250 µl Waschpuffer waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
7.	100 µl Substrat (SUB) in jede Vertiefung pipettieren.
8.	25–30 min* bei Raumtemperatur (15–30 °C) im Dunkeln inkubieren.
9.	100 µl Stopplösung (STOP) in jede Vertiefung pipettieren.
10.	Extinktion sofort im Mikrotiterplattenphotometer bei 450 nm gegen die Referenzwellenlänge 620 nm messen. Ist keine Referenzwellenlänge vorhanden, wird nur bei 450 nm gemessen.

* 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. SICHERHEITSHINWEISE

- Der Assay ist ausschließlich nach der dem Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchzuführen.
- Es wird empfohlen, die Kitkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material zu behandeln.
- Die Kitkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen ProClin™ 950 oder ProClin™ 300. ProClin™ 950 und ProClin™ 300 können bei Kontakt mit der Haut allergische Reaktionen hervorrufen. **Achtung:** Kann allergische Hautreaktionen verursachen (H317). Bei der Verwendung der Kit-substanzen sind daher Schutzhandschuhe, Schutzkleidung, Augenschutz/ Gesichtsschutz zu tragen. **BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT:** Mit viel Wasser waschen. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Auch Substrate für enzymatische Farbreaktionen sind als giftig beschrieben. Jeder Kontakt mit Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.
- Das Antikörperkonzentrat (**AB**) enthält zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen CMIT/MIT (3:1) und MIT. CMIT/MIT (3:1) und MIT sind schädlich für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung (H412). Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
- Das 10x Waschpufferkonzentrat (**WASHBUF**) enthält Tenside, welche bei Augenkontakt zu schweren Augenreizungen führen können. **Achtung:** Verursacht schwere Augenreizung (H319). **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.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller, der Immundiagnostik AG, zurückzusenden.
- Schwerwiegende Vorkommnisse sind der Immundiagnostik AG und den nationalen Aufsichtsbehörden zu melden.

- Dieser Kit wurde nach der Verordnung (EU) 2017/746 (IVDR) hergestellt und in Verkehr gebracht.

9. LITERATUR

1. Burk, R.F. and K.E. Hill, Selenoprotein P-expression, functions, and roles in mammals. *Biochim Biophys Acta*, 2009. 1790(11): p. 1441-7.
2. Schomburg, L., Selenoprotein P - Selenium transport protein, enzyme and biomarker of selenium status. *Free Radic Biol Med*, 2022. 191: p. 150-163.
3. Atkins, J.F. and R.F. Gesteland, The twenty-first amino acid. *Nature*, 2000. 407(6803): p. 463, 465.
4. Schweizer, U., et al., Seizures, ataxia and parvalbumin-expressing interneurons respond to selenium supply in Selenop-deficient mice. *Redox Biol*, 2022. 57: p. 102490.
5. Ha, H.Y., et al., From Selenium Absorption to Selenoprotein Degradation. *Biol Trace Elem Res*, 2019. 192(1): p. 26-37.
6. Schöttker, B., et al., Strong associations of serum selenoprotein P with all-cause mortality and mortality due to cancer, cardiovascular, respiratory and gastrointestinal diseases in older German adults. *Eur J Epidemiol*, 2024. 39(2): p. 121-136.
7. Brodin, O., et al., Selenoprotein P as Biomarker of Selenium Status in Clinical Trials with Therapeutic Dosages of Selenite. *Nutrients*, 2020. 12(4).
8. Rayman, M.P., Selenium and human health. *Lancet*, 2012. 379(9822): p. 1256-68.

10. SYMBOLERKLÄRUNGEN



Chargenbezeichnung



In-vitro-Diagnostikum



Hersteller



Temperaturbegrenzung



Produktspezifikationsdatenblatt beachten



Europäische Konformität



Enthält Plasmaderivate oder menschliches Blut



Bestellnummer



Zu verwenden mit



Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen



Verwendbar bis



Gebrauchsanweisung beachten



Eindeutige Produktidentifizierung



Achtung:
Für zugehörige Gefahrenhinweise siehe Kapitel SICHERHEITSHINWEISE

This short manual is an excerpt of the manual:

For professional use only

selenOtest ELISA

For the in vitro determination of selenoprotein P in serum

Valid from 2026-03-18 REV003

REF

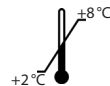
YC5900

Σ 96

REF

YC5900.20

Σ 20 x 96



IVD

CE₂₇₉₇



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

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: +49 6251 70190-363

E-mail: info@immundiagnostik.com www.immundiagnostik.com

Table of Contents

1. INTENDED PURPOSE	16
2. INTRODUCTION	16
3. MATERIALS PROVIDED	17
4. MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED	18
5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS	18
6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES	20
6.1 <i>Sample collection</i>	20
6.2 <i>Sample storage</i>	20
6.3 <i>Sample dilution</i>	20
7. ASSAY PROCEDURE	20
7.1 <i>Test principle</i>	20
7.2 <i>Automated processing</i>	21
7.3 <i>Manual processing</i>	21
8. WARNINGS AND PRECAUTIONS	22
9. LITERATURE	23
10. SYMBOL EXPLANATION	24

Important note

The following instructions serve as a short manual for the preparation and execution of the test. **It is important to note that this document does not replace the full instructions for use.**

1. INTENDED PURPOSE

The selenOtest ELISA is an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the quantitative detection of selenoprotein P in human serum. The test is an *in vitro* diagnostic device and is intended for use by professional users in a laboratory environment. It can be performed manually or using an automated platform. It is used to monitor functional selenium status in individuals with suspected selenium deficiency or excess and can also be used to support the differentiated assessment of selenium status in the context of selenium deficiency therapy through selenium supplementation.

2. INTRODUCTION

Selenoprotein P (SELENOP) is a multifunctional glycoprotein that plays a central role in selenium metabolism in the human body [1, 2]. It belongs to the family of selenoproteins, which contain selenium as an essential component in the form of the amino acid selenocysteine [3].

The main function of SELENOP is to ensure the transport and distribution of selenium from the liver to peripheral tissues, particularly the brain and endocrine glands, which have a high selenium requirement. SELENOP also has antioxidant and protective properties. Reduced growth, infertility of males and pronounced neurodegeneration with epileptic seizures have been observed in animal models of SELENOP deficiency [4].

Selenium is mainly absorbed through food, with selenium-rich foods such as fish, meat, eggs and milk being the primary sources. After absorption in the intestine, selenium is mainly incorporated in the liver in the form of selenocysteine in the synthesis of selenoproteins such as SELENOP. Selenium availability in the hepatocytes is the most important limiting factor [5].

An unbalanced SELENOP status has a negative effect on the immune system, the thyroid axis and cognitive and musculoskeletal performance. In addition, SELENOP deficiency increases the risk of cardiovascular events (stroke, heart attack) and tumour diseases (especially liver, intestine and kidney) [6]. An elevated SELENOP status serves as an indicator of selenium intoxication (selenosis), which can manifest itself through symptoms such as nausea, hair loss, brittle fingernails and toenails and neurological symptoms such as tingling or concentration disorders [7].

Both deficiency and excess impair the antioxidant defence, the hormone axes, the immune system and the function of vital organs. Regular monitoring of selenium status is therefore a useful diagnostic tool for monitoring and adjusting personalised care, protecting against degenerative processes and thus maintaining health [8].

3. MATERIALS PROVIDED

Cat. No.	Identifier	Kit components	Quantity	
			YC5900	YC5900.20
YC5900	PLATE	Microtiter plate, pre-coated	12 x 8 wells	20 x 12 x 8 wells
	AB	Detection antibody concentrate	1 x 300 µl	10 x 300 µl
	STD	Standard concentrate, lyophilized (see product specification for concentration)	4 x vial	20 x vial
	CTRL1	Control 1, lyophilized (see product specification for range)	4 x vial	20 x vial
	CTRL2	Control 2, lyophilized (see product specification for range)	4 x vial	20 x vial
	SAMPLEBUF	Sample dilution buffer, ready-to-use	1 x 40 ml	6 x 100 ml
	REABUF	Antibody dilution buffer	4 x 6 ml	3 x 90 ml
K 0001.C.100	WASHBUF	Wash buffer concentrate, 10x	2 x 100 ml	20 x 100 ml
K 0005.15	RECSOL	Reconstitution solution, ready-to-use	1 x 15 ml	5 x 15 ml
K 0002.15	SUB	Substrate (tetramethylbenzidine), ready-to-use	1 x 15 ml	20 x 15 ml
K 0003.15	STOP	Stop solution, ready-to-use	1 x 15 ml	20 x 15 ml

4. MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Ultrapure water (conductivity $\leq 0.055 \mu\text{S}/\text{cm}$ at 25°C , particle size $\leq 0.2 \mu\text{m}$)
- 1.5 ml standard single-use laboratory plastic vials (disposables)
- Calibrated precision pipettes and single-use tips with variable volumes from 10–1000 μl
- Microtiter plate photometer with 450 nm filter, optionally with reference wavelength (620 nm)
- Calibrated multi-channel pipettes or multipipette and single-use tips with variable volumes from 10–1 000 μl
- Vortex mixer without specific requirements

5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS

- 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.**
- **Preparation of the wash buffer:** The **wash buffer concentrate (WASHBUF)** must be diluted with ultrapure water **1:10** before use (e.g. 100 ml WASHBUF + 900 ml ultrapure water), mix well. Due to the high salt content in the concentrate, crystals may form. The crystals dissolve at room temperature ($15\text{--}30^\circ\text{C}$) or in a water bath at 37°C . **WASHBUF stored at $2\text{--}8^\circ\text{C}$** can be used until the indicated expiry date. **Wash buffer** (1:10 diluted WASHBUF) can be stored in a closed bottle at **$2\text{--}8^\circ\text{C}$ for 1 month**.
- The **lyophilized standard concentrate (STD)** and the **lyophilized controls (CTRL)** can be stored at **$2\text{--}8^\circ\text{C}$** and used until the specified expiration date. Reconstitute **STD** and **CTRL** with **x μl RECSOL** (x=see specification), leave to stand at room temperature ($15\text{--}30^\circ\text{C}$) for at least 5 minutes, and mix thoroughly using a vortex mixer. The selenoprotein P content varies slightly from batch to batch; the exact content is specified in the product specification. The controls are ready for use after reconstitution and do not require further dilution.
- **Standards and controls (STD and CTRL)** are stable when opened, reconstituted, or as a working solution for at least one working day (**up to 12 hours**) at $\leq 28^\circ\text{C}$.
- **Preparation of the detection antibody:** Add **50 μl of detection antibody concentrate (AB)** to the reagent bottle with **6 ml antibody dilution buffer (REABUF)**, then close the bottle and mix by gently by swirling 4 to 5 times. This solution is stable for at least one working day (**up to 12 hours**) at $\leq 28^\circ\text{C}$.

- Remove as many microtiter strips from the kit as needed. After opening the vacuum-sealed aluminum packaging, store all unused strips together with the desiccant bag in the sealed aluminum packaging at **2–8 °C**. The strips can be used until the expiration date indicated on the label.
- Substrate solution must be colorless before use.
- Avoid foaming when mixing reagents.
- All other test reagents are ready to use and can be used until the indicated expiration date when stored at **2–8 °C** (see label).
- The reagents must not be used after the expiration date indicated on the kit packaging.
- Do not mix reagents of the test kit with other lots. Furthermore, wells of different microtiter plates, even of the same lot, must not be combined and used for analysis.
- Do not interchange plugs and caps from different reagents.
- Quality controls must be measured with each run.

Preparation of the standard curve

- A standard curve is prepared in 6 reaction vials (capacity 1.5 ml) with the **standard concentrate (STD)** and **sample dilution buffer (SAMPLEBUF)** according to the following scheme:

SELENOP [µg/l]	SAMPLEBUF [µl]	+	Standard concentrate [µl]	=	Total volume [µl]
Standard 1: 0	500	+	0	=	500
Standard 2: 15	490	+	10	=	500
Standard 3: 30	480	+	20	=	500
Standard 4: 60	460	+	40	=	500
Standard 5: 120	420	+	80	=	500
Standard 6: 240	340	+	160	=	500

6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES

6.1 Sample collection

Serum must be collected and processed using the appropriate blood collection tubes in accordance with the manufacturer's instructions.

Blood collection tubes containing liquid anticoagulants have a diluting effect, resulting in lower values for patient samples. To minimise dilution effects, it is important that the appropriate blood collection tubes are completely filled according to the manufacturer's instructions.

6.2 Sample storage

Samples are stable for up to 1 day at $\leq 25^{\circ}\text{C}$, 8 days at $2\text{--}8^{\circ}\text{C}$, or 6 months at -20°C . Up to three freeze–thaw cycles have no effect on the measured selenoprotein P concentration.

6.3 Sample dilution

Serum samples are diluted 1:41 with sample dilution buffer (**SAMPLEBUF**):

e.g. **10 μl** sample + **400 μl** **SAMPLEBUF**

100 μl of the dilution are used per well in the test.

7. ASSAY PROCEDURE

7.1 Test principle

This assay is a sandwich ELISA for the quantitative measurement of selenoprotein P in human serum.

The wells of the microtiter plate are coated with a monoclonal anti-selenoprotein P-antibody. During the first incubation step, selenoprotein P present in the sample is bound to the immobilized antibody, forming the first antigen-antibody complex. After a washing step to remove all unbound sample components, a horseradish peroxidase (HRP)-labeled detection antibody is added. A capture antibody-antigen-detection antibody-complex is formed. Unbound substances are removed by another washing step. After the addition of an enzymatic reaction substrate (tetramethylbenzidine, TMB), HRP catalyzes the oxidation of the colorless TMB into blue oxidized TMB. The reaction is stopped by adding an acidic stop solution and the color changes from blue to yellow. The intensity of the yellow color is directly proportional to the concentration of SELENOP. Results are determined via a calibration curve.

7.2 Automated processing

For automated processing of the test, automation-specific adjustments must be made to the test procedure in order to fulfil technical requirements. For support and queries, please contact your provider or Immundiagnostik AG.

7.3 Manual processing

Before use, allow all reagents and samples to reach room temperature (15–30 °C) and mix well.

Mark the positions for standards/samples/controls in the protocol sheet. Remove the required microtiter strips from the kit.

Take as many microtiter strips as needed from the kit.

Pipetting standards/samples/controls is to be carried out **in duplicate**.

1.	Pipette 100 µl standards/controls/diluted samples into the respective wells.
2.	Incubate for 45 min at room temperature (15–30 °C).
3.	Discard the content of each well and wash 5 x with 250 µl wash buffer . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
4.	Add 100 µl detection antibody (with REABUF diluted AB) into each well.
5.	Incubate for 30 min at room temperature (15–30 °C).
6.	Discard the contents of the wells and wash each well 5 x with 250 µl wash buffer . After the final washing step, remove any remaining wash buffer by tapping the plate onto absorbent paper.
7.	Add 100 µl substrate (SUB) into each well.
8.	Incubate for 25–30 min* at room temperature (15–30 °C) in the dark .
9.	Add 100 µl stop solution (STOP) into each well.
10.	Determine absorption immediately with an ELISA reader at 450 nm against 620 nm as a reference. If no reference wavelength is available, read only at 450 nm.

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















8. WARNINGS AND PRECAUTIONS

- The assay should only be performed according to the instructions provided with the kit.
- As a precaution, it is recommended that the kit components always should be handled as potentially infectious material. The kit components contain ProClin™ 950 or ProClin™ 300 to protect against bacterial contamination. ProClin™ 950 and ProClin™ 300 may cause allergic reactions in contact with skin. **Warning:** May cause an allergic skin reaction (H317). Wear protective gloves, protective clothing, eye protection/face protection while using the kit components. **IF ON SKIN:** Wash with plenty of water. If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention. Substrates for enzymatic color reactions are also described as toxic and carcinogenic. Any contact with skin or mucous membranes should be avoided.
- The antibody concentrate (**AB**) contains CMIT/MIT (3:1) and MIT to protect against bacterial contamination. CMIT/MIT (3:1) and MIT are harmful to aquatic life with long-lasting effects (H412). Avoid release into the environment.
- The 10x Wash Buffer Concentrate (**WASHBUF**) contains detergents which may cause severe irritation upon contact with the eyes. **Warning:** Causes severe eye irritation (H319). **IN CASE OF CONTACT WITH EYES:** Rinse cautiously with water for several minutes. If possible, remove contact lenses. Continue rinsing. If eye irritation persists: Seek medical advice/attention.
- The stop solution consists of diluted sulphuric acid (H_2SO_4). H_2SO_4 is a strong acid and must be used with care even in diluted form. H_2SO_4 causes burns on contact with the skin. It should therefore be handled with protective gloves, protective clothing and safety goggles. In case of contact with the acid, the burnt area must be rinsed immediately with plenty of water. Do not inhale vapors and avoid inhalation.
- In the event of warranty claims, the rejected material must be returned to the manufacturer, Immundiagnostik AG, accompanied by a written explanatory statement within 14 days.
- Serious incidents are to be reported to Immundiagnostik AG and the national regulatory authorities.
- This kit has been manufactured and placed on the market in accordance with Regulation (EU) 2017/746 (IVDR).

9. LITERATURE

1. Burk, R.F. and K.E. Hill, Selenoprotein P-expression, functions, and roles in mammals. *Biochim Biophys Acta*, 2009. 1790(11): p. 1441-7.
2. Schomburg, L., Selenoprotein P - Selenium transport protein, enzyme and biomarker of selenium status. *Free Radic Biol Med*, 2022. 191: p. 150-163.
3. Atkins, J.F. and R.F. Gesteland, The twenty-first amino acid. *Nature*, 2000. 407(6803): p. 463, 465.
4. Schweizer, U., et al., Seizures, ataxia and parvalbumin-expressing interneurons respond to selenium supply in Selenop-deficient mice. *Redox Biol*, 2022. 57: p. 102490.
5. Ha, H.Y., et al., From Selenium Absorption to Selenoprotein Degradation. *Biol Trace Elem Res*, 2019. 192(1): p. 26-37.
6. Schöttker, B., et al., Strong associations of serum selenoprotein P with all-cause mortality and mortality due to cancer, cardiovascular, respiratory and gastrointestinal diseases in older German adults. *Eur J Epidemiol*, 2024. 39(2): p. 121-136.
7. Brodin, O., et al., Selenoprotein P as Biomarker of Selenium Status in Clinical Trials with Therapeutic Dosages of Selenite. *Nutrients*, 2020. 12(4).
8. Rayman, M.P., Selenium and human health. *Lancet*, 2012. 379(9822): p. 1256-68.

10. SYMBOL EXPLANATION

	Lot number		Catalogue number
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device		To be used with
	Manufacturer		Contains sufficient for <n> tests
	Temperature limitation		Use by
	Consult product specification data sheet		Consult instructions for use
	European Conformity		Unique Device Identification
	Contains plasma derivatives or human blood		Warning: For associated hazard statements please see chapter PRECAUTIONS

Immundiagnostik AG

Stubenwald-Allee 8a
64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: +49 6251 70190-363

info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

