



## User's Manual



# 17- $\alpha$ -OH Progesterone CLIA

IVD

REF

**CLA-4665**



**96 wells**



Legal Manufacturer:

**DRG** 

DRG Instruments GmbH, Germany

Division of DRG International, Inc

Frauenbergstr. 18, D-35039 Marburg

Telefon: +49 (0)6421-17000 Fax: +49-(0)6421-1700 50

Internet: [www.drg-diagnostics.de](http://www.drg-diagnostics.de)

E-mail: [drg@drg-diagnostics.de](mailto:drg@drg-diagnostics.de)

Distributed by:



**Contents / Inhaltsverzeichnis / Contenuti / Contenido / Contenu**

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

1	EINLEITUNG.....	12
2	TESTPRINZIP.....	12
3	VORSICHTSMAßNAHMEN .....	13
4	BESTANDTEILE DES KITS .....	14
5	PROBENVORBEREITUNG .....	15
6	TESTDURCHFÜHRUNG .....	15
7	ERWARTETE WERTE.....	17
8	QUALITÄTS-KONTROLLE .....	17
9	ASSAY CHARACTERISTIKA.....	17
10	GRENZEN DES TESTS.....	18
11	RECHTLICHE GRUNDLAGEN .....	18
12	REFERENZEN / LITERATUR.....	18

	SYMBOLS USED WITH DRG CLIAS .....	19
--	-----------------------------------	----

## 1 INTRODUCTION

### 1.1 Intended Use

The **DRG 17- $\alpha$ -OH Progesterone Chemiluminescence Immunoassay Kit** provides materials for the quantitative determination of 17- $\alpha$ -OH Progesterone in serum.

**This assay is intended for in vitro diagnostic use only.**

### 1.2 Summary and Explanation

The steroid 17- $\alpha$ -Hydroxyprogesterone (17- $\alpha$ -OHP) is produced by both the adrenal cortex and gonads. Even though 17- $\alpha$ -OHP has relatively little progesterational activity, it is of intense clinical interest because it is the immediate precursor to 11-desoxycortisol (Cpd-S). Because Cpd-S is produced by 21-hydroxylation of 17- $\alpha$ -OHP, measurement of 17- $\alpha$ -OHP is a useful indirect indicator of 21-hydroxylase activity. In congenital 21-hydroxylase deficiency, the most common variety of congenital adrenal hyperplasia (CAH), 17- $\alpha$ -OHP is secreted in abundant excess. It is moderately elevated in the 11- $\beta$ -hydroxylase deficiency as well. Measurement of 17- $\alpha$ -OHP is therefore valuable in the initial diagnosis of CAH.

### 1.3 Clinical Physiology

#### **Adult non-pregnant women:**

In adult non-pregnant women in the childbearing age group, 17- $\alpha$ -OHP concentrations vary over the menstrual cycle with luteal phase concentrations being higher than follicular phase concentrations. This is because 17- $\alpha$ -OHP is secreted parallel with progesterone from maturing follicles or from the corpus luteum. There is also a diurnal variation of 17- $\alpha$ -OHP concentrations.

This rhythm is parallel with adrenal cortisol secretion such that maximum 17- $\alpha$ -OHP concentrations are measured in samples obtained between midnight and 8:00 am.

#### **Adult males:**

There is little information available on the systematic variability of 17- $\alpha$ -OHP concentration in adult males.

#### **Pregnant women and newborn children:**

The steroid 17- $\alpha$ -OHP is produced in large amounts by the fetus and the adrenals. It is secreted in abundance into both the fetal and maternal circulation. The maternal concentrations of 17- $\alpha$ -OHP increase very sharply after 32 weeks gestational age to about 4-fold above basal concentrations at term.

### 1.4 Clinical Application

#### **Congenital adrenal hyperplasia:**

The principal application of the 17- $\alpha$ -OHP RIA is in the diagnosis of CAH in newborns with ambiguous genitalia and in virilized adolescent girls. Since 17- $\alpha$ -OHP is the immediate precursor to 11-desoxycortisol, basal 17- $\alpha$ -OHP concentrations are sharply elevated in patients with 21-hydroxylase deficiency and to a lesser degree in patients with 11-hydroxylase deficiency.

Because 17- $\alpha$ -OHP concentrations are so markedly elevated in newborns and adolescent girls afflicted with CAH, a single basal measurement is all that is normally required to make the diagnosis.

#### **Late onset adrenal hyperplasia:**

More recently, 17- $\alpha$ -OHP concentrations have been utilized in the evaluation of androgenized women where late onset 21-hydroxylase is suspected. This condition is clinically very subtle and since the presentation is the same as classical polycystic ovarian disease, basal plasma 17- $\alpha$ -OHP concentrations, unlike classical congenital adrenal hyperplasia, are normal. The diagnosis is made by administration of an ACTH stimulation test.

#### **Other applications:**

Measurement of 17- $\alpha$ -OHP concentrations is also utilized in evaluation of both men and women with acne vulgaris, male pattern baldness and in some subtle forms of infertility. Experiences with these applications are very limited.

## 2 PRINCIPLE OF THE TEST

The DRG 17- $\alpha$ -OH Progesterone CLIA Kit is a chemiluminescence immunoassay (CLIA), based on the principle of competitive binding.

The microtiter wells are coated with a polyclonal antibody directed towards an antigenic site on the 17- $\alpha$ -OHP molecule. Endogenous 17- $\alpha$ -OHP of a patient sample competes with a 17- $\alpha$ -OHP-horseradish peroxidase conjugate for binding to the coated antibody. After incubation the unbound conjugate is washed off.

The amount of bound peroxidase conjugate is inversely proportional to the concentration of 17- $\alpha$ -OHP in the sample. After addition of the substrate solution, the intensity of emitted light is inversely proportional to the concentration of 17- $\alpha$ -OHP in the patient sample.

## 3 WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. This kit is for in vitro diagnostic use only. For professional use only.
2. All reagents of this test kit which contain human serum or plasma have been tested and confirmed negative for HIV I/II, HBsAg and HCV by FDA approved procedures. All reagents, however, should be treated as potential biohazards in use and for disposal.
3. Before starting the assay, read the instructions completely and carefully. Use the valid version of the package insert provided with the kit. Be sure that everything is understood.
4. The microplate contains snap-off strips. Unused wells must be stored at 2 °C to 8 °C in the sealed foil pouch and used in the frame provided.
5. Pipetting of samples and reagents must be done as quickly as possible and in the same sequence for each step.
6. Use reservoirs only for single reagents. This especially applies to the substrate reservoirs. Using a reservoir for dispensing a substrate solution that had previously been used for the conjugate solution may turn solution colored. Do not pour reagents back into vials as reagent contamination may occur.
7. Mix the contents of the microplate wells thoroughly to ensure good test results. Do not reuse microwells.
8. Do not let wells dry during assay; add reagents immediately after completing the rinsing steps.
9. Allow the reagents to reach room temperature (21-26°C) before starting the test. Temperature will affect the absorbance readings of the assay. However, values for the patient samples will not be affected.
10. Never pipet by mouth and avoid contact of reagents and specimens with skin and mucous membranes.
11. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.
12. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents or specimens may give false results.
13. Handling should be done in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guideline or regulation.
14. Do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
15. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microtiterplate readers.
16. Do not mix or use components from kits with different lot numbers. It is advised not to exchange wells of different plates even of the same lot. The kits may have been shipped or stored under different conditions and the binding characteristics of the plates may result slightly different.
17. Avoid contact with *Stop Solution* containing 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. It may cause skin irritation and burns.
18. Some reagents contain Proclin 300, BND and/or MIT as preservatives. In case of contact with eyes or skin, flush immediately with water.
19. TMB substrate has an irritant effect on skin and mucosa. In case of possible contact, wash eyes with an abundant volume of water and skin with soap and abundant water. Wash contaminated objects before reusing them. If inhaled, take the person to open air.
20. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guideline or regulation.
21. For information on hazardous substances included in the kit please refer to Material Safety Data Sheets. Material Safety Data Sheets for this product are available upon request directly from DRG.

## 4 REAGENTS

### 4.1 Reagents provided

1. **Microtiterwells**, 12 x 8 (break apart) strips, 96 wells;  
Wells coated with a anti-17- $\alpha$ -OHP antibody (polyclonal)
2. **Standard (Standard 0-6)**, 7 vials, 1 mL, ready to use;  
Concentrations: 0 - 0.15 - 0.5 - 1.5 - 3 - 7.5 - 20 ng/mL  
Conversion: 1 ng/mL = 3.0 nmol/L  
Contain non-mercury preservative.
3. **Enzyme Conjugate**, 1 vial, 12 mL, ready to use;  
17- $\alpha$ -OHP conjugated to horseradish Peroxidase;  
Contain non-mercury preservative
4. **Chemiluminescence Substrate Solution**,  
**Reagent A**, 1 vial, 2 mL, *Note: light sensitive!*  
**Reagent B**, 1 vial, 2 mL, *Note: light sensitive!*  
**Reagent C**, 1 vial, 10 mL  
see „Preparation of Reagents“.
5. **Wash Solution**, 1 vial, 30 mL (40X concentrated);  
see „Preparation of Reagents“.

**Note:** Additional *Standard 0* for sample dilution is available upon request.

### 4.2 Materials required but not provided

- A microtiter plate luminometer.
- Calibrated variable precision micropipettes.
- Absorbent paper.
- Distilled or deionized water
- Timer
- Semi logarithmic graph paper or software for data reduction

### 4.3 Storage Conditions

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

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

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

### 4.4 Reagent Preparation

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

#### **Wash Solution**

Add deionized water to the 40X concentrated Wash Solution.

Dilute 30 mL of concentrated *Wash Solution* with 1170 mL deionized water to a final volume of 1200 mL.

*The diluted Wash Solution is stable for 2 weeks at room temperature.*

#### **Chemiluminescence Substrate Solution**

Mix **1 part** of the chemiluminescence **Reagent A** with **1 parts** of **Reagent B** and dilute this mixture 1:4 with **Reagent C**. This gives the ready to use substrate solution.

The prepared substrate solution is stable for one hour. Prepare fresh before use.

If the whole plate is to be used prepare the substrate solution as follows:

Add 1.5 mL of each *Reagent A* and *Reagent B* into 9 mL *Reagent C*

### 4.5 Disposal of the Kit

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

#### 4.6 Damaged Test Kits

In case of any severe damage to the test kit or components, DRG has to be informed in writing, at the latest, one week after receiving the kit. Severely damaged single components should not be used for a test run. They have to be stored until a final solution has been found. After this, they should be disposed according to the official regulations.

### 5 SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum can be used in this assay.

Do not use haemolytic, icteric or lipaemic specimens.

*Please note:* Samples containing sodium azide should not be used in the assay.

#### 5.1 Specimen Collection

##### Serum:

Collect blood by venipuncture (e.g. Sarstedt Monovette # 02.1388.001), allow to clot, and separate serum by centrifugation at room temperature. Do not centrifuge before complete clotting has occurred. Patients receiving anticoagulant therapy may require increased clotting time.

#### 5.2 Specimen Storage and Preparation

Specimens should be capped and may be stored for up to 24 hours at 2 °C to 8 °C prior to assaying. Specimens held for a longer time should be frozen only once at -20 °C prior to assay. Thawed samples should be inverted several times prior to testing.

#### 5.3 Specimen Dilution

If in an initial assay, a specimen is found to contain more than the highest standard, the specimens can be diluted with *Standard 0* and reassayed as described in Assay Procedure.

For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

##### Example:

- a) Dilution 1:10:           10  $\mu$ L Serum + 90  $\mu$ L *Standard 0* (mix thoroughly)
- b) Dilution 1:100:        10  $\mu$ L dilution a) 1:10 + 90  $\mu$ L *Standard 0* (mix thoroughly).

### 6 ASSAY PROCEDURE

#### 6.1 General Remarks

- All reagents and specimens must be allowed to come to room temperature before use. All reagents must be mixed without foaming.
- Once the test has been started, all steps should be completed without interruption.
- Use new disposal plastic pipette tips for each standard, control or sample in order to avoid cross contamination.
- Light intensity is a function of the incubation time and temperature. Before starting the assay, it is recommended that all reagents are ready, caps removed, all needed wells secured in holder, etc. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step without interruption.
- As a general rule the enzymatic reaction is linearly proportional to time and temperature.

## 6.2 Test Procedure

Each run must include a standard curve.

1. Secure the desired number of Microtiter wells in the holder.
2. Dispense **20  $\mu$ L** of each **Standard, Control** and samples with new disposable tips into appropriate wells.
3. Dispense **100  $\mu$ L Enzyme Conjugate** into each well.
4. Thoroughly mix for 10 seconds. It is important to have a complete mixing in this step.
5. Incubate for **60 minutes** at room temperature.
6. Briskly shake out the contents of the wells.  
Rinse the wells 5 times with diluted Wash Solution (400  $\mu$ L per well). Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.  
**Important note:**  
The sensitivity and precision of this assay is markedly influenced by the correct performance of the washing procedure!
7. Add **100  $\mu$ L** of the freshly prepared Substrate Solution to each well. (See "Preparation of Reagents.")
8. Incubate for **10 minutes** at room temperature.
9. Read the RLU with a microtiter plate luminometer **within 20 minutes** after incubation time of substrate.

## 6.3 Calculation of Results

1. Calculate the average Relativ Light Units (RLU) values for each set of standards, controls and patient samples.
2. Construct a standard curve by plotting the mean RLU obtained from each standard against its concentration with RLU value on the vertical(Y) axis and concentration on the horizontal (X) axis.
3. Using the mean RLU value for each sample determine the corresponding concentration from the standard curve.
4. Automated method: The results in the IFU have been calculated automatically using a 4 PL (4 Parameter Logistics) curve fit. Other data reduction functions may give slightly different results.
5. The concentration of the samples can be read directly from this standard curve. Samples with concentrations higher than that of the highest standard have to be further diluted. For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

### 6.3.1 Example of Typical Standard Curve

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

Standard	RLU ( $\times 10^3$ )	RLU/RLU <sub>max</sub> (%)
Standard 0 (0 ng/mL)	3783	100
Standard 1 (0.15 ng/mL)	2529	66.8
Standard 2 (0.5 ng/mL)	1395	36.9
Standard 3 (1.5 ng/mL)	631	16.7
Standard 4 (3 ng/mL)	338	8.9
Standard 5 (7.5 ng/mL)	149	3.9
Standard 6 (20 ng/mL)	71	1.9

\*\* It is recommended to use the RLU/RLU<sub>max</sub> values for comparative purposes since luminometers vary considerably between manufacturers. Results from different luminometers will show different RLU values, however, the RLU/RLU<sub>max</sub> values remain consistent.

## 7 EXPECTED NORMAL VALUES

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

In a study using the DRG 17- $\alpha$ -OH Progesterone CLIA the following values are observed:

<b>Newborns</b>	girls	boys	boys and girls
1. month after birth	2.4 - 16.8 ng/mL	0.0 - 8.0 ng/mL	0 - 16.8 ng/mL
2. month after birth	1.6 - 9.7 ng/mL	3.6 - 13.7 ng/mL	1.9 - 9.8 ng/mL
3. month after birth	0.1 - 3.1 ng/mL	1.7 - 4.0 ng/mL	0.1 - 4.0 ng/mL

<b>Children</b>	3 - 14 years	0.07 - 1.7 ng/mL
<b>Reproductive aged women</b>	Follicular phase:	0.1 - 0.8 ng/mL
	Luteal phase:	0.6 - 2.3 ng/mL
	Ovulation:	0.3 - 1.4 ng/mL
	Post ACTH:	< 3.2 ng/mL
	Third trimester:	2.0 - 12 ng/mL
	Postmenopausal women	0.13 - 0.51 ng/mL
<b>Normal men</b>		0.5 - 2.1 ng/mL

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

## 8 QUALITY CONTROL

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

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results. Use controls at both normal and pathological levels.

The controls and the corresponding results of the QC-Laboratory are stated in the QC certificate added to the kit. The values and ranges stated on the QC sheet always refer to the current kit lot and should be used for direct comparison of the results.

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

Employ appropriate statistical methods for analysing control values and trends. If the results of the assay do not fit to the established acceptable ranges of control materials patient results should be considered invalid. In this case, please check the following technical areas: Pipetting and timing devices; photometer, expiration dates of reagents, storage and incubation conditions, aspiration and washing methods.

After checking the above mentioned items without finding any error contact your distributor or DRG directly.



## 9 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 9.1 Assay Dynamic Range

The range of the assay is between 0.05 – 20 ng/mL.

### 9.2 Specificity of Antibodies (Cross Reactivity)

The following substances were tested for cross reactivity of the assay:

<b>Steroid</b>	<b>% Cross Reaction</b>
17- $\alpha$ -OH Progesterone	100.0
Estriol	< 0.01
Estradiol 17 $\beta$	< 0.01
Testosterone	< 0.01
Dihydrotestosterone	< 0.01
DOC	0.05
11-Desoxicortisol	1.4
Progesterone	1.2
DHEA	< 0.01
DHEAS	< 0.001
Cortisol	< 0.01
Corticosterone	< 0.05
Aldosterone	< 0.01
Androstendione	< 0.01
Dehydroepiandrosten sulfate	< 0.01
Prednison	< 0.01

### 9.3 Sensitivity

The analytical sensitivity of the DRG CLIA was calculated by subtracting 2 standard deviations from the mean of 20 replicate analyses of the Standard 0 and was found to be 0.05 ng/mL.

### 9.4 Reproducibility

#### 9.4.1 Intra Assay

The within assay variability is shown below:

Sample	n	Mean (ng/mL)	CV (%)
1	20	2.77	4.62
2	20	3.05	4.51
3	20	3.86	3.60

#### 9.4.2 Inter Assay

The between assay variability is shown below:

Sample	n	Mean (ng/mL)	CV (%)
1	12	1.84	1.77
2	12	2.29	3.93
3	12	11.42	4.73

**9.5 Recovery**

Recovery of the DRG CLIA was determined by adding increasing amounts of the analyte to three different patient sera containing different amounts of endogenous analyte. Each sample (non-spiked and spiked) was assayed and analyte concentrations of the samples were calculated from the standard curve. The percentage recoveries were determined by comparing expected and measured values of the samples.

Sample	Endogenous 17 $\alpha$ OH-P ng/mL	Added 17 $\alpha$ OH-P ng/mL	Measured Conc. 17 $\alpha$ OH-P ng/mL	Expected Conc 17 $\alpha$ OH-P ng/mL	Recovery ( % )
1	14.31	10	17.79	17,16	103,7
		3.75	9.82	10,91	90,1
		1.5	7.43	8,66	85,8
2	1.71	10	10.12	10,86	93,2
		3.75	4.07	4,61	88,4
		1.5	2.20	2,36	93,4
3	3,10	10	11,68	11,55	101,1
		3,75	4,97	5,30	93,8
		1,5	2,61	3,05	85,6

**9.6 Linearity**

Sample	Dilution	Measured Conc. 17 $\alpha$ OH-P (ng/mL)	Expected Conc. 17 $\alpha$ OH-P (ng/mL)	Recovery (%)
1	None	1.04	1.04	
	1:2	0.51	0.52	98.1
	1:4	0.25	0.26	96.2
	1:8	0.12	0.13	92.3
	1:16	0.07	0.07	107.7
2	None	3.15	3.15	
	1:2	1.77	1.58	112.4
	1:4	0.85	0.79	107.9
	1:8	0.43	0.39	109.2
	1:16	0.21	0.20	106.7
3	None	2.67	2.67	
	1:2	1.36	1.34	101.9
	1:4	0.72	0.67	107.9
	1:8	0,35	0.33	104.9
	1:16	0,19	0.17	113.9

## 10 LIMITATIONS OF USE

Reliable and reproducible results will be obtained when the assay procedure is performed with a complete understanding of the package insert instruction and with adherence to good laboratory practice. Any improper handling of samples or modification of this test might influence the results.

### 10.1 Interfering Substances

Haemoglobin (up to 4 mg/mL), Bilirubin (up to 0.5 mg/mL) and Triglyceride (up to 7.5 mg/mL) have no influence on the assay results.

### 10.2 Drug Interferences

Until today no substances (drugs) are known to us, which have an influence to the measurement of 17- $\alpha$ -OH Progesterone in a sample.

### 10.3 High-Dose-Hook Effect

No hook effect was observed in this test.

## 11 LEGAL ASPECTS

### 11.1 Reliability of Results

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable national standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test. The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications. In case of any doubt or concern please contact DRG.

### 11.2 Therapeutic Consequences

Therapeutic consequences should never be based on laboratory results alone even if all test results are in agreement with the items as stated under point 11.1. Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of a patient.

Only in cases where the laboratory results are in acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient should therapeutic consequences be derived.

The test result itself should never be the sole determinant for deriving any therapeutic consequences.

### 11.3 Liability

Any modification of the test kit and/or exchange or mixture of any components of different lots from one test kit to another could negatively affect the intended results and validity of the overall test. Such modification and/or exchanges invalidate any claim for replacement.

Claims submitted due to customer misinterpretation of laboratory results subject to point 11.2. are also invalid. Regardless, in the event of any claim, the manufacturer's liability is not to exceed the value of the test kit. Any damage caused to the test kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer.

**12 REFERENCES / LITERATURE**

1. Abraham, G.E., R.S. Swerdloff, D. Tulchinsky et al: Radioimmunoassay of plasma 17-hydroxyprogesterone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 33:42, 1971
2. Chrousos, G.P., D. L. Loriaux, D.L. Mann, et al: Late onset 21- hydroxylase deficiency mimicking idiopathic hirsutism or polycystic ovarian disease. *Annals Intern. Med.* 96:143, 1982.
3. Buster, J.E., R.J. Chang, D.L. Preston, et al: Interrelationships of circulating maternal steroids; progesterone, 16 $\alpha$ -hydroxyprogesterone, 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone, 20 $\alpha$ -dihydroprogesterone, gamma-5-pregnenolone, gamma-5- pregnenolone-sulfate, gamma-5-pregnenolone-sulfate and 17-hydroxy gamma-5-pregnenolone, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 48:133, 1979.
4. New, M.I., B. Dupont, S. Pang, et al: An update on congenital adrenal hyperplasia. *Recent Progress in Hormone Research*, 37:105, 1981. 5. Pang S.,
5. J. Hotchkiss, A. Drash, et al: Micro filter paper method for 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone radioimmunoassay: Its application for rapid screening for congenital adrenal hyperplasia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 45:1003, 1977.
6. Lobo, R.A., U. Goebelsmann: Adult manifestation of congenital adrenal hyperplasia due to incomplete 21-hydroxylase deficiency mimicking polycystic ovarian disease. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 138:720, 1980.
7. Urban, M.D., P.A. Lee and C.J. Migeon: Adult high infertility in men with congenital adrenalized hyperplasia. *N. Engl. J. Med.* 299:1392, 1978.
8. Meikle, A.W., R.J. Worley and C.D. West: Adrenal corticoid hyper-response in hirsute women. *Fertil. Steril.* 41:575, 1984
9. Ueshiba, H., Zerah M., New M. I.: Enzyme-linked Immunosorbent assay (ELISA). Method for screening of non-classical steroid 21-Hydroxylase deficiency. *Norm. Metab. Res.* 26:43, 1994

## 1 EINLEITUNG

Der **DRG 17- $\alpha$ -OH Progesterone CLIA** wird zur quantitativen Bestimmung von 17- $\alpha$ -Hydroxyprogesteron (17- $\alpha$ -OHP) in Serum eingesetzt.

**Nur für In-vitro Diagnostik.**

### 1.1 Klinische Bedeutung

17- $\alpha$ -OH Progesteron ist ein C-21 -Steroid, das sowohl in der Nebennierenrinde als auch in den Gonaden gebildet wird.

17- $\alpha$ -OHP dient als Vorstufe bei der Biosynthese des Cortisols und ist ein wichtiger Parameter in der Diagnostik der kongenitalen Nebennierenhyperplasie, deren häufigere Ursache der 21-Hydroxylase-Mangel - eine autosomal rezessiv vererbte Krankheit ist.

Der 21-Hydroxylase-Mangel verhindert die Synthese des Cortisols aus 17- $\alpha$ -OH Progesteron. Daraus resultiert eine kompensatorische Erhöhung der Sekretion von 17- $\alpha$ -OH Progesteron, ACTH, DHEA und anderer Androgene.

Daher ist 17- $\alpha$ -OH Progesteron ein Parameter für die 21-Hydroxylase Enzymaktivität der Nebenniere. Die 17- $\alpha$ -OH Progesteron Konzentration ist bei Patienten mit 21-Hydroxylase-Mangel in Blut und Speichel deutlich erhöht.

### Indikationen:

1. Die 17- $\alpha$ -OH Progesteron-Bestimmung dient bei Erwachsenen der Erkennung eines nicht-klassischen 21-Hydroxylase-Defizits. Die 17- $\alpha$ -OH Progesteron-Bestimmung ist bei folgenden, das nicht-klassische 21 Hydroxylase-Defizit kennzeichnenden Symptomen indiziert:
  - Hirsutismus
  - Akne
  - abnormaler Menstruationszyklus
  - Infertilität

Da das nicht-klassische 21-Hydroxylase-Defizit auch asymptomatisch oder mit geringfügigen Symptomen, wie Akne oder Hirsutismus, verlaufen kann, ist eine 17- $\alpha$ -OH Progesteron-Bestimmung bei allen Erwachsenen indiziert, um ein eventuelles Risiko der Vererbung eines 21-Hydroxylase-Mangels einschätzen zu können (8).

Bei normalen basalen 17- $\alpha$ -OH Progesteron-Konzentrationen kann zur Diagnose eines 21-Hydroxylase-Mangels ein ACTH Stimulationstest eingesetzt werden. Bei Vorliegen eines 21-Hydroxylase-Mangels steigt die 17- $\alpha$ -OHP-Konzentration nach Stimulation mit ACTH extrem an.

2. Die 17- $\alpha$ -OH Progesteron-Bestimmung dient bei Kindern der Diagnose des klassischen 21-Hydroxylase-Mangels, der häufigsten Form der kongenitalen adrenalen Hyperplasie (CAH) bei Neugeborenen mit uneindeutigen Genitalien und bei heranwachsenden Mädchen mit Virilismus-Symptomen.

Mindestens 50 % der Kinder mit 21-Hydroxylase-Mangel leiden unter einem Krankheitsbild, welches neben der Virilisierung auch durch einen lebensbedrohlichen Salzverlust gekennzeichnet ist, da dieser Enzymmangel auch die Synthese der Mineralocorticoide beeinflusst.

## 2 TESTPRINZIP

Der DRG 17- $\alpha$ -OH Progesterone CLIA ist ein Chemilumineszenz-Immunoassay (CLIA), der auf dem Prinzip der kompetitiven Bindung basiert.

Die Wells der Mikrotiterplatten sind mit einem polyklonalen Antikörper beschichtet, der gegen eine Antikörper-Bindungsstelle des 17- $\alpha$ -OHP-Moleküls gerichtet ist.

Die Proben werden in die beschichteten Wells gegeben und zusammen mit einem 17- $\alpha$ -OHP-Enzymkonjugat inkubiert. Während der Inkubation konkurriert das 17- $\alpha$ -OHP aus der Probe mit dem 17- $\alpha$ -OHP-Enzymkonjugat um die freien Bindungsstellen auf den beschichteten Wells.

Das nicht gebundene Konjugat wird durch Waschen der Wells entfernt. Anschließend wird die Substratlösung zugegeben.

Die Intensität des gebildeten Lichtes ist umgekehrt proportional der 17- $\alpha$ -OHP -Konzentration in der Probe.

### 3 VORSICHTSMAßNAHMEN

- Dieser Kit ist nur zum in vitro diagnostischen Gebrauch geeignet.
- Nur die gültige, im Testkit enthaltene, Arbeitsanleitung verwenden.
- Informationen zu im Kit enthaltenen gefährlichen Substanzen entnehmen Sie bitte dem Material Sicherheitsdatenblatt.
- Alle Bestandteile dieses Testkits, die humanes Serum oder Plasma enthalten, wurden mit FDA-geprüften Methoden auf HIV I/II, HbsAg und HCV getestet und als negativ bestätigt. Jedoch sollten alle Bestandteile im Umgang und bei der Entsorgung wie mögliche Gefahrenstoffe betrachtet werden.
- Der Kontakt mit der *Stop Solution* sollte vermieden werden, da sie 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> enthält. Schwefelsäure kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.
- Nicht mit dem Mund pipettieren und den Kontakt von Kitbestandteilen und Proben mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
- In den Bereichen, in denen Proben oder Kitbestandteile verwendet werden, nicht rauchen, essen oder Kosmetika verwenden.
- Beim Umgang mit Proben oder Reagenzien Einweg-Latexhandschuhe tragen. Die Verunreinigung von Reagenzien oder Proben mit Mikroben kann zu falschen Ergebnissen führen.
- Der Gebrauch sollte gemäß der Vorschriften einer entsprechenden nationalen Gefahrenstoff-Sicherheitsrichtlinie erfolgen.
- Reagenzien nicht nach dem auf dem Kit-Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Alle im Kit-Protokoll angegebenen Mengen müssen genau eingehalten werden. Optimale Ergebnisse können nur durch Verwendung kalibrierter Pipetten und Mikrotiterplatten-Lesegeräte erreicht werden.
- Komponenten von Kits mit unterschiedlichen Lotnummern nicht untereinander vertauschen. Es wird empfohlen, keine Wells von verschiedenen Platten zu verwenden, auch nicht, wenn es sich um das gleiche Lot handelt. Die Kits können unter anderen Bedingungen gelagert oder versendet worden sein, so dass die Bindungscharakteristik der Platten leicht unterschiedlich ausfällt.
- Chemikalien und zubereitete oder bereits benutzte Reagenzien müssen gemäß den nationalen Gefahrenstoffvorschriften wie gefährlicher Abfall behandelt werden.
- Material Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage direkt von der Firma DRG Instruments GmbH erhältlich. Die Material Sicherheitsdatenblätter entsprechen den Verordnungen der EU-Richtlinie 91/155 EC.

## 4 BESTANDTEILE DES KITS

### 4.1 Kitinhalt

1. **Microtiterwells**, 96 Wells, 12x8 Wells (einzeln brechbar); mit anti- 17- $\alpha$ -OHP-Antikörper (polyklonal) beschichtet.
2. **Standard (Standard 0-6)**, 7 Fläschchen, je 1 mL, gebrauchsfertig;  
Konzentrationen: 0; 0,15; 0,5; 1,5; 3; 7,5; 20 ng/mL  
0; 0,45; 1,5; 4,5; 9,1; 22,7; 60,6 nmol/L  
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
3. **Enzyme Conjugate** (Enzymkonjugat), 1 Fläschchen, 12 mL, gebrauchsfertig; 17- $\alpha$ -OHP mit Meerrettichperoxidase konjugiert.  
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
4. **Chemiluminescence Substrate Solution**,  
**Reagent A**, 1 Fläschchen, 2 mL, *Achtung: Lichtempfindlich!*  
**Reagent B**, 1 Fläschchen, 2 mL, *Achtung: Lichtempfindlich!*  
**Reagent C**, 1 Fläschchen, 10 mL  
Siehe „Vorbereitung der Reagenzien“.
5. **Wash Solution** (Waschlösung), **40X** konzentriert, 1 Fläschchen, 30 mL;  
Siehe „Vorbereitung der Reagenzien“.

**Anmerkung:** Zusätzlicher *Standard 0* zur Probenverdünnung ist auf Anfrage erhältlich.

### 4.2 Erforderliche aber nicht enthaltene Geräte und Materialien

- Mikrotiterplatten-Luminometer
- Kalibrierte variable Präzisions-Mikropipette
- Saugfähiges Papier
- Destilliertes Wasser

### 4.3 Lagerung und Haltbarkeit des Kits

Die ungeöffneten Reagenzien behalten bei Lagerung um 2 °C bis 8 °C ihre Reaktivität bis zum Verfallsdatum. Nach dem Verfallsdatum die Reagenzien nicht mehr verwenden.  
Nach dem Öffnen sollten alle Reagenzien bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.  
Die Mikrotiterwells sollten bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Der einmal geöffnete Folienbeutel sollte stets sehr sorgfältig wieder verschlossen werden. Unter den beschriebenen Lagerbedingungen behalten geöffnete Kits 6 Wochen ihre Reaktivität.

### 4.4 Vorbereitung der Reagenzien

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

#### **Wash Solution**

Die 40-fach konzentrierte *Wash Solution* (30 mL) mit 1170 mL destilliertem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 1200 mL verdünnen.

*Die verdünnte Waschlösung ist bei Raumtemperatur für 2 Wochen stabil.*

#### **Chemiluminescence Substrate Solution**

Mischen Sie **1 Teil Reagent A** mit **1 Teil Reagent B**. Verdünnen Sie diese Mischung 1:4 mit Reagent C.  
Dadurch erhalten Sie die gebrauchsfertige Substratlösung.

Diese angesetzte Substratlösung ist für 1 Stunde stabil. Die Lösung muss immer frisch angesetzt werden.

Wird die ganze Platte verwendet, setzen sie die Substratlösung wie folgt an:

1,5 mL *Reagent A* + 1,5 mL *Reagent B* in 9 mL *Reagent C* geben.

#### 4.5 Entsorgung des Kits

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

#### 4.6 Beschädigte Testkits

Im Falle einer starken Beschädigung des Testkits oder der Komponenten muss die Firma DRG in schriftlicher Form spätestens eine Woche nach Erhalt des Kits informiert werden. Stark beschädigte Einzelkomponenten sollten nicht für den Testlauf verwendet werden. Sie müssen gelagert werden bis eine endgültige Lösung gefunden wurde. Danach sollten Sie gemäß den offiziellen Richtlinien entsorgt werden.

### 5 PROBENVORBEREITUNG

Serum kann in diesem Test als Probenmaterial eingesetzt werden.

Lipämische, ikterische und/oder stark hämolysierte Proben sollten nicht verwendet werden.

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

#### 5.1 Probenentnahme

##### Serum:

Blut durch Venenpunktion entnehmen (z.B. mit Sarstedt Monovette # 02.1388.001), gerinnen lassen und das Serum durch Zentrifugation bei Raumtemperatur abtrennen. Vor der Zentrifugation muss die Gerinnung vollständig abgeschlossen sein. Bei Patienten, die Antikoagulantien erhalten, kann die Gerinnungszeit länger dauern.

#### 5.2 Probenaufbewahrung

Proben sollten stets gut verschlossen sein und können vor Testbeginn bis zu 24 Stunden bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.

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

#### 5.3 Probenverdünnung

Wenn in einem ersten Testdurchlauf bei einer Probe eine Konzentration höher als der höchste Standard gefunden wird, kann diese Probe mit *Standard 0* weiter verdünnt und nochmals bestimmt werden. Die Verdünnung muss jedoch bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden.

##### Beispiel:

a) Verdünnung 1:10: 10  $\mu$ L Serum + 90  $\mu$ L *Standard 0* gründlich mischen)

b) Verdünnung 1:100: 10  $\mu$ L Verdünnung a) 1:10 + 90  $\mu$ L *Standard 0* (gründlich mischen).

### 6 TESTDURCHFÜHRUNG

#### 6.1 Allgemeine Hinweise

- Alle Reagenzien und Proben müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht und gut durchmischt werden. Dabei sollte Schaumbildung vermieden werden.
- Wenn die Testdurchführung einmal begonnen wurde, muss sie ohne Unterbrechung zu Ende geführt werden.
- Für jeden Standard, jede Kontrolle oder Probe eine neue Plastikspitze verwenden, um Verschleppungen zu vermeiden.
- Die Lichtintensität ist abhängig von Inkubationszeit und Temperatur. Deshalb ist es notwendig, vor Beginn der Testdurchführung alle Reagenzien in einen arbeitsbereiten Zustand zu bringen, die Deckel der Fläschchen zu öffnen, alle benötigten Wells in den Halter zu setzen. Nur eine solche Vorbereitung garantiert gleiche Zeiten für jeden Pipettiervorgang ohne Pausen.
- Als generelle Regel gilt, dass die enzymatische Reaktion linear proportional zu Zeit und Temperatur ist.



## 6.2 Testdurchführung

Jeder Lauf muss eine Standardkurve beinhalten.

1. Die benötigte Anzahl Wells in der Halterung befestigen.
2. **Je 20  $\mu$ L Standard, Control** und Proben mit neuen Plastikspitzen in die entsprechenden Wells geben.
3. **100  $\mu$ L Enzyme Conjugate** in jedes Well geben.
4. Für 10 Sekunden gut schütteln. Es ist sehr wichtig, in diesem Schritt eine komplette Durchmischung zu erreichen.
5. **60 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
6. Den Inhalt der Wells kräftig ausschütteln. Wells 3mal mit verdünnter Waschlösung waschen. Verbleibende Flüssigkeit durch Ausklopfen der Wells auf saugfähigem Papier entfernen.  
**Achtung:** Die Sensitivität und Präzision dieses Assays wird erheblich beeinflusst von der korrekten Durchführung des Waschschrilles!
7. **100  $\mu$ L** frisch zubereitete Substratlösung in jedes Well geben. (Sieh „Vorbereitung der Reagenzien“.)
8. **10 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
9. Messen der RLUs mit einem Mikrotiterplatten-Luminometer **innerhalb von 20 Minuten** nach Ende der Substrat-Inkubation

## 6.3 Ergebnisermittlung

1. Die durchschnittlichen Werte der „Relativ Light Units“ (RLU) für jedes Set von Standards, Controls und Patientenproben bestimmen.
2. Eine Standardkurve ermitteln durch Auftragen der mittleren RLUs jedes Standards gegen die Konzentration, wobei der RLU-Wert auf der vertikalen (Y) Achse und die Konzentration auf der horizontalen (X) Achse eingetragen wird.
3. Unter Verwendung der mittleren RLU wird für jede Probe die entsprechende Konzentration aus der Standardkurve ermittelt.
4. Automatische Methode: Die in der Arbeitsanleitung ermittelten Werte wurden automatisch mit Hilfe der 4 Parameter Gleichung (4PL, 4 Parameter Logistics, 4 Parameter Rodbard) bestimmt. Andere Auswertungsfunktionen können leicht abweichende Werte ergeben.
5. Die Konzentration der Proben kann direkt von der Standardkurve abgelesen werden. Proben, die eine höhere Konzentration als die des höchsten Standards enthalten, müssen verdünnt werden. Dieser Verdünnungsfaktor muss bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden.

### 6.3.1 Beispiel für eine Standardkurve

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

Standard	RLU ( $\times 10^3$ )	RLU/RLU <sub>max</sub> (%)
Standard 0 (0 ng/mL)	3783	100
Standard 1 (0.15 ng/mL)	2529	66.8
Standard 2 (0.5 ng/mL)	1395	36.9
Standard 3 (1.5 ng/mL)	631	16.7
Standard 4 (3 ng/mL)	338	8.9
Standard 5 (7.5 ng/mL)	149	3.9
Standard 6 (20 ng/mL)	71	1.9

\*\* Um vergleichbare Werte zu erhalten, wird empfohlen, das Verhältnis von RLU/RLU<sub>max</sub> zu verwenden, da die Messungen zwischen Luminometern verschiedener Hersteller variieren. Verschiedene Luminometer ergeben unterschiedliche RLU-Werte, das Verhältnis von RLU/RLU<sub>max</sub> dagegen bleibt konstant.

## 7 ERWARTETE WERTE

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

In einer Studie wurden die Proben untersucht. Dabei ergaben sich mit dem DRG 17- $\alpha$ -OH Progesterone

Neugeborene	Mädchen	Jungen	Mädchen und Jungen
1. Monat nach der Geburt	2.4 - 16.8 ng/mL	0.0 - 8.0 ng/mL	0 - 16.8 ng/mL
2. Monat nach der Geburt	1.6 - 9.7 ng/mL	3.6 - 13.7 ng/mL	1.9 - 9.8 ng/mL
3. Monat nach der Geburt	0.1 - 3.1 ng/mL	1.7 - 4.0 ng/mL	0.1 - 4.0 ng/mL

<b>Kinder</b>	3 - 14 Jahre	0,07 - 1,7 ng/mL
<b>Frauen</b>	Follikelphase	0,1 - 0,8 ng/mL
	Lutealphase	0,6 - 2,3 ng/mL
	Ovulation	0,3 - 1,4 ng/mL
	Nach ACTH-Stimulierung	< 3,2 ng/mL
	Drittes Trimester	2,0 - 12 ng/mL
	Postmenopausal	0,13 - 0,51 ng/mL
<b>Männer</b>		0,5 - 2,1 ng/mL

## 8 QUALITÄTS-KONTROLLE

Es wird empfohlen, die Kontrollproben gemäß den nationalen gesetzlichen Bestimmungen einzusetzen. Durch die Verwendung von Kontrollproben wird eine Tag-zu-Tag Überprüfung der Ergebnisse erzielt. Es sollten Kontrollen sowohl mit normalem als auch pathologischem Level eingesetzt werden.

Die Kontrollen mit den entsprechenden Ergebnissen des QC-Labors sind im QC-Zertifikat, das dem Kit beiliegt, aufgeführt. Die im QC-Blatt angegebenen Werte und Bereiche beziehen sich stets auf die aktuelle Kitcharge und sollten zum direkten Vergleich der Ergebnisse verwendet werden.

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

Es sollten geeignete statistische Methoden zur Analyse von Kontroll-Werten und Trends angewendet werden. Wenn die Ergebnisse des Assays nicht mit den angegebenen Akzeptanzbereichen des Kontrollmaterials übereinstimmen, sollten die Patientenergebnisse als ungültig eingestuft werden.

In diesem Fall überprüfen Sie bitte die folgenden Bereiche: Pipetten und Zeitnehmer, Photometer, Verfallsdatum der Reagenzien, Lagerungs- und Inkubationsbedingungen, Absaug- und Waschmethode. Sollten Sie nach Überprüfung der vorgenannten Bereiche keinen Fehler erkannt haben, setzen Sie sich bitte mit Ihrem Lieferanten oder direkt mit der Firma DRG in Verbindung.

## 9 ASSAY CHARACTERISTIKA

### 9.1 Messbereich

Der Messbereich des Testes liegt zwischen 0,05 – 20 ng/mL

### 9.2 Spezifität der Antikörper (Kreuzreaktivität)

Die Daten entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Arbeitsanleitung.

### 9.3 Sensitivität

Die analytische Sensitivität, definiert als Mittelwert minus der zweifachen Standardabweichung des Standards 0 (n = 20), beträgt 0,05 ng/mL.

Die Daten zu:

#### **9.4 Reproduzierbarkeit (Präzision)**

#### **9.5 Wiederfindung**

#### **9.6 Linearität**

entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Arbeitsanleitung.

### **10 GRENZEN DES TESTS**

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

#### **10.1 Interferenzen**

Hämoglobin (bis zu 4 mg/mL), Bilirubin (bis zu 0,5 mg/mL) und Triglyceride (bis zu 7,5 mg/mL) haben keinen Einfluss auf das Testergebnis.

#### **10.2 Beeinflussung durch Medikamente**

Uns sind bislang keine Stoffe (Medikamente) bekannt geworden, deren Einnahme die Messung des 17- $\alpha$ -OHP-Gehaltes der Probe beeinflussen würde.

#### **10.3 High-Dose-Hook Effekt**

Ein Hook Effekt tritt in diesem Test nicht auf.

### **11 RECHTLICHE GRUNDLAGEN**

#### **11.1 Zuverlässigkeit der Ergebnisse**

Der Test muss exakt gemäß der Testanleitung des Herstellers abgearbeitet werden. Darüber hinaus muss der Benutzer sich strikt an die Regeln der GLP (Good Laboratory Practice) oder andere eventuell anzuwendende Regeln oder nationale gesetzliche Vorgaben halten. Dies betrifft besonders den Gebrauch der Kontrollreagenzien. Es ist sehr wichtig, bei der Testdurchführung stets eine ausreichende Anzahl Kontrollen zur Überprüfung der Genauigkeit und Präzision mitlaufen zu lassen.

Die Testergebnisse sind nur gültig, wenn alle Kontrollen in den vorgegebenen Bereichen liegen, und wenn alle anderen Testparameter die vorgegebenen Spezifikationen für diesen Assay erfüllen. Wenn Sie bezüglich eines Ergebnisses Zweifel oder Bedenken haben, setzen Sie sich bitte mit der Firma DRG in Verbindung.

#### **11.2 Therapeutische Konsequenzen**

Therapeutische Konsequenzen sollten keinesfalls nur aufgrund von Laborergebnissen erfolgen, selbst dann nicht, wenn alle Testergebnisse mit den in 11.1. genannten Voraussetzungen übereinstimmen. Jedes Laborergebnis ist nur ein Teil des klinischen Gesamtbildes eines Patienten.

Nur in Fällen, in denen die Laborergebnisse in akzeptabler Übereinstimmung mit dem allgemeinen klinischen Bild des Patienten stehen, sollten therapeutische Konsequenzen eingeleitet werden. Das Testergebnis allein sollte niemals als alleinige Grundlage für die Einleitung therapeutischer Konsequenzen dienen.

#### **11.3 Haftung**











Jegliche Veränderungen des Testkits und/oder Austausch oder Vermischung von Komponenten unterschiedlicher Chargen von einem Testkit zu einem anderen, können die gewünschten Ergebnisse und die Gültigkeit des gesamten Tests negativ beeinflussen. Solche Veränderungen und/oder Austausch haben den Ausschluss jeglicher Ersatzansprüche zur Folge.

Reklamationen, die aufgrund von Falschinterpretation von Laborergebnissen durch den Kunden gemäß Punkt 11.2. erfolgen, sind ebenfalls abzuweisen. Im Falle jeglicher Reklamation ist die Haftung des Herstellers maximal auf den Wert des Testkits beschränkt. Jegliche Schäden, die während des Transports am Kit entstanden sind, unterliegen nicht der Haftung des Herstellers.

### **12 REFERENZEN / LITERATUR**

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

## SYMBOLS USED WITH DRG CLIAS

Symbol	English	Deutsch	Français	Español	Italiano
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las Instrucciones	Consultare le istruzioni per l'uso
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	Usage Diagnostic in vitro	Para uso Diagnóstico in vitro	Per uso Diagnostica in vitro
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Seulement dans le cadre de recherches	Sólo para uso en investigación	Solo a scopo di ricerca
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Référence	Número de catálogo	No. di Cat.
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	No. de lot	Número de lote	Lotto no
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Température de conservation	Temperatura de conservación	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeitsdatum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
<i>Distributed by</i>	Distributor	Vertreiber	Distributeur	Distribuidor	Distributore
<i>Content</i>	Content	Inhalt	Contenu	Contenido	Contenuto
<i>Volume/No.</i>	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Numéro	Volumen/Número	Volume/Quantità
<i>Microtiterwells</i>	Microtiterwells	Mikrotiterwells	Plaques de micro-titration	Placas multipocillo	Micropozzetti
<i>Antiserum</i>	Antiserum	Antiserum	Antisérum	Antisero	Antisiero
<i>Enzyme Conjugate</i>	Enzyme Conjugate	Enzymkonjugat	Conjugué enzymatique	Conjugado enzimático	Tracciante enzimatico
<i>Enzyme Complex</i>	Enzyme Complex	Enzymkomplex	Complexe enzymatique	Complex enzimático	Complesso enzimatico
<i>Substrate Solution</i>	Substrate Solution	Substratlösung	Solution substrat	Solución de sustrato	Soluzione di substrato
<i>Stop Solution</i>	Stop Solution	Stopplösung	Solution d'arrêt	Solución de parada	Soluzione d'arresto
<i>Zero Standard</i>	Zero Standard	Nullstandard	Zero Standard	Estándar cero	Standard zero
<i>Standard</i>	Standard	Standard	Standard	Estándar	Standard
<i>Control</i>	Control	Kontrolle	Contrôle	Control	Controllo
<i>Reagent A</i>	Reagent A	Reagenz A			
<i>Reagent B</i>	Reagent B	Reagenz B			
<i>Reagent C</i>	Reagent C	Reagenz C			
<i>Assay Buffer</i>	Assay Buffer	Assaypuffer	Tampon d'essai	Tampón de ensayo	Tampone del test
<i>Wash Solution</i>	Wash Solution	Waschlösung	Solution de lavage	Solución de lavado	Soluzione di lavaggio
<i>1N NaOH</i>	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH (idrossido di sodio 1N)
<i>1 N HCl</i>	1 N HCl	1 N HCl	1N HCl	1 N HCl	
<i>Sample Diluent</i>	Sample Diluent	Probenverdünnungsmedium	Solution pour dilution de l'échantillon	Solución para dilución de la muestra	Diluyente dei campioni
<i>Conjugate Diluent</i>	Conjugate Diluent	Konjugatverdünnungsmedium	Solution pour dilution du conjugué	Solución para dilución del conjugado	Diluyente del tracciante