

WSTĘP

PRZEZNACZENIE

Zestaw immunoenzymatyczny DRG 17- α -OH-progesteron jest testem immunoenzymatycznym do ilościowego oznaczania 17- α -OH progesteronu w surowicy.

Ten test jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki w warunkach in vitro.

STRESZCZENIE I WYJAŚNIENIA

Hormon sterydowy, 17- α -hydroksyprogesteron (17- α -OHP) jest wytwarzany przez korę nadnerczy i gonady. Chociaż 17- α -OHP wykazuje względnie słabe działanie progestagenne, ma duże znaczenie kliniczne, ponieważ jest bezpośrednim prekursorem dla 11-dezoksykoryzolu (Cpd-S). Ponieważ Cpd-S jest wytwarzany przez 21-hydroksylację 17- α -OHP, pomiar 17- α -OHP jest użytecznym wskaźnikiem aktywności 21-hydroksylazy. We wrodzonym niedoborze 21-hydroksylazy, najczęstszym typie wrodzonego przerostu nadnerczy (CAH), 17- α -OHP jest wytwarzany w nadmiernych ilościach. Stężenie 17- α -OHP jest podwyższone w umiarkowanym stopniu także w niedoborze 11- β -hydroksylazy. W związku z tym pomiar 17- α -OHP jest wartościowym elementem początkowej diagnostyki w kierunku CAH.

FIZJOLOGIA KLINICZNA

Dorośle, nieciążarne kobiety:

U dorosłych, nieciążarnych kobiet w wieku rozrodczym, stężenia 17- α -OHP zmieniają się w trakcie cyklu miesięcznego: stężenie 17- α -OHP jest wyższe w fazie lutealnej, niż w fazie folikularnej, gdyż 17- α -OHP jest wydzielany wraz z progesteronem przez dojrzewające pęcherzyki jajnikowe lub przez ciało żółte. Stężenie 17- α -OHP wykazuje także wahania dobowe.

Ten rytm naśladuje rytm dobowy wydzielania kortyzolu przez korę nadnerczy: maksymalne stężenie 17- α -OHP występuje w próbkach pobranych między północą a godziną 8:00.

Dorośli mężczyźni:

Istnieje niewiele danych na temat zmienności stężenia 17- α -OHP u dorosłych mężczyzn.

Kobiety ciężarne i noworodki:

Hormon sterydowy 17- α -OHP jest wytwarzany w dużych ilościach przez płód i nadnercza. Jest wydzielany w dużych ilościach do krążenia płodowego i matczynego. Stężenie 17- α -OHP we krwi matki rośnie gwałtownie po 32 tygodniu ciąży, w tygodniu 40 osiągając stężenie 4-krotnie wyższe od stężenia podstawowego.

ZASTOSOWANIA KLINICZNE**Wrodzony przerost nadnerczy:**

Główne zastosowanie pomiaru 17- α -OHP jest w diagnostyce CAH u noworodków z niejednoznacznymi zewnętrznymi narządami płciowymi i u nastoletnich dziewcząt z cechami wirylizacji. Ponieważ 17- α -OHP jest bezpośrednim prekursorem 11-dezoksykortyzolu, podstawowe stężenie 17- α -OHP jest znacznie podwyższone u pacjentów z niedoborem 21-hydroksylazy, a w mniejszym stopniu u pacjentów z niedoborem 11-hydroksylazy.

Ze względu na to, że stężenie 17- α -OHP jest znacznie podwyższone u noworodków i nastoletnich dziewcząt z CAH, normalnie do postawienia rozpoznania wystarcza pojedyncze oznaczenie 17- α -OHP.

Przerost nadnerczy o późnym początku:

Ostatnio zastosowano pomiar stężenia 17- α -OHP w diagnostyce kobiet z cechami hiperandrogenizmu, przy podejrzeniu niedoboru 21-hydroksylazy o późnym początku. Jest to schorzenie cechujące się bardzo subtelnymi objawami klinicznymi, a ponieważ jego objawy są takie same, jak klasycznego zespołu policystycznych jajników, podstawowe stężenie 17- α -OHP w osoczu krwi jest prawidłowe, w przeciwieństwie do klasycznego wrodzonego przerostu nadnerczy. Rozpoznanie stawia się na podstawie testu stymulacji ACTH.

Inne zastosowania:

Pomiar stężenia 17- α -OHP wykorzystuje się także do oceny mężczyzn i kobiet z trądzikiem, łysienia o typie męskim oraz niektórych subtelnych postaci bezpłodności. Doświadczenie z tymi zastosowaniami jest bardzo niewielkie.

ZASADA OZNACZENIA

Zestaw DRG 17- α -OHP ELISA jest testem immunoenzymatycznym stałej fazy (ELISA), opierającym się na zasadzie konkurencyjnego wiązania.

Mikrostudzienki są opłaszczane przeciwciałem poliklonalnym skierowanym przeciwko miejscu antygenowemu na cząsteczce 17- α -OHP.

Endogenne 17- α -OHP zawarte w próbce pacjenta konkurują z roztworem sprzężonym 17- α -OHP-peroksydazą chrzanową o wiązanie z przeciwciałem opłaszczonym. Po inkubacji niezwiązany roztwór sprzężony jest wmywany.

Ilość związanej peroksydazy jest proporcjonalna do stężenia 17- α -OHP w próbce.

Po dodaniu roztworu substratu, natężenie otrzymanego koloru jest odwrotnie proporcjonalne do stężenia 17- α -OHP w próbce pacjenta.

OSTRZEŻENIA ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Niniejszy zestaw przeznaczony jest wyłącznie do zastosowania diagnostycznego w warunkach in vitro. Do zastosowania przez osoby fachowe.
2. Wszystkie odczynniki zestawu testowego, które zawierają ludzką surowicę lub osocze, przebadano z wynikiem ujemnym na obecność HIV I/II, antygenu HBs i HCV procedurami zatwierdzonymi przez FDA. Mimo tego, wszystkimi odczynnikami należy postąpić się i wyrzucać je jak substancje potencjalnie niebezpieczne.
3. Przed rozpoczęciem oznaczenia należy uważnie przeczytać całą instrukcję obsługi. Należy postąpić się aktualną wersją ulotki informacyjnej, dołączonej do zestawu. Należy upewnić się, że wszystko jest zrozumiałe.
4. Mikroplątka zawiera odrywane paski. Niewykorzystane zagłębienia muszą być przechowywane w temperaturze 2° do 8°C, w szczelnie zamkniętej torebce foliowej. Należy je stosować w ramce zawartej w zestawie.
5. Próbkę i odczynniki zestawu należy pipetować jak najszybciej, w tej samej kolejności w każdym etapie oznaczenia.
6. Należy używać jednego pojemnika tylko dla pojedynczego odczynnika. To szczególnie dotyczy pojemników na substrat. Postąpić się pojemnikiem do odmierzenia roztworu substratu, który wcześniej wykorzystywano do roztworu sprzężonego, może prowadzić do wystąpienia zabarwienia roztworu. Nie wlewać odczynników z powrotem do fiolek, gdyż może dojść do zanieczyszczenia odczynników.
7. Należy dobrze wymieszać zawartość mikroplątki, aby zagwarantować uzyskanie dobrych wyników oznaczenia. Nie stosować ponownie raz użytych studzienek.
8. Podczas oznaczenia nie wolno dopuścić do wyschnięcia studzienek; odczynniki należy dodawać bezpośrednio po zakończeniu etapów płukania.

9. Przed rozpoczęciem oznaczenia należy pozostawić odczynniki, aby osiągnęły temperaturę pokojową (21 - 26°C). Temperatura wpływa na odczyt absorbancji, natomiast nie ma wpływu na wyniki oznaczeń próbek pacjentów.
10. Nigdy nie pipetować ustami i unikać kontaktu odczynników i próbek ze skórą i błonami śluzowymi.
11. Nie palić, nie jeść, nie pić i nie stosować kosmetyków w miejscach, gdzie stosuje się próbki i odczynniki zestawu.
12. Przy posługiwaniu się próbkami i odczynnikami stosować jednorazowe rękawiczki lateksowe. Zanieczyszczenie odczynników lub próbek drobnoustrojami może prowadzić do uzyskania fałszywych wyników.
13. Próbkami i odczynnikami należy posługiwać się zgodnie z procedurami określonymi w odpowiednich krajowych wytycznych i regulacjach dotyczących bezpieczeństwa biologicznego.
14. Nie stosować odczynników po upływie terminu ważności podanego na etykietach zestawu.
15. Należy przestrzegać wszystkich objętości podanych w protokole. Optymalne wyniki oznaczenia można uzyskać tylko przy stosowaniu kalibrowanych pipet.
16. Nie mieszać i nie stosować elementów zestawów o różnych numerach serii. Zaleca się nie mieszać studzienek z różnych płytek nawet w obrębie tej samej serii. Zestawy mogą być transportowane lub przechowywane w różnych warunkach i charakterystyki wiązania płytek mogą się nieznacznie różnić.
17. Unikać kontaktu z roztworem zatrzymującym reakcję, zawierającym 0,5 M H₂SO₄. Może powodować podrażnienie skóry i oparzenia.
18. Niektóre odczynniki zawierają Proclin, BND i MIT jako środki konserwujące. W przypadku kontaktu z oczami lub skórą, zanieczyszczone miejsce należy natychmiast przepłukać wodą.

19. Substrat TMB wywiera podrażniający wpływ na skórę i błony śluzowe. W przypadku ewentualnego kontaktu, przemyć oczy dużą ilością wody, a skórę mydłem i dużą ilością wody. Przed użyciem należy wymyć zanieczyszczone przedmioty. W razie kontaktu wziewnego, wyprowadzić osobę na otwarte powietrze.
20. Substancje chemiczne i przygotowane lub stosowane należy traktować odczynniki jak niebezpieczne odpadki, zgodnie z krajowymi wytycznymi lub regulacjami dotyczącymi bezpieczeństwa biologicznego.
21. Informacje dotyczące niebezpiecznych substancji zawartych w zestawie można znaleźć w Karcie Charakterystyki Substancji Niebezpiecznej. Karty Charakterystyki Substancji Niebezpiecznej dla tego produktu dostępne są na życzenie bezpośrednio w firmie DRG.

ODCZYNNIKI

Zawartość zestawu

1. **Mikrostudzienki**, 12 x 8 (odłamywanych) pasków, 96 studzienek; studzienki są opłaszczane przeciwciałem poliklonalnym przeciw 17- α -OHP.

2. **Standard (Standard 0 - 6)**, 7 fiolek, 1 ml każda, gotowe do użycia;

Stężenia: 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

Przelicznik: ng/mL x 3,03 = nmol/L

Zawierają konserwanty bez rtęci.

3. **Kontrola Niska & Wysoka**, 2 fiołki, 1 mL każda, gotowe do użycia

Zawierają konserwanty bez rtęci.

4. Roztwór sprzężony enzymu, 1 fiolka, 25 ml, gotowy do użycia;

17- α -OHP sprzężony z peroksydazą chrzanową;

Zawierają konserwanty bez rtęci.

5. Roztwór substratu, 1 fiolka, 25 ml, gotowy do użycia.

Tetrametylobenzydyna (TMB).

6. Roztwór zatrzymujący reakcję, 1 fiolka, 14 ml, gotowy do użycia

zawiera 0,5 M H₂SO₄.

Unikać kontaktu z roztworem zatrzymującym reakcję. Może powodować podrażnienia skóry i oparzenia.

6. Roztwór Płuczący, 1 fiolka, 30 ml (40 x stężony)

Patrz „Przygotowanie odczynników”.

* BND = 5-bromo-5-nitro-1,3-dioksan

MIT = 2-metylo-2H-izotiazol-3-on

UWAGA: Dodatkowy Standard zero do rozcieńczania próbek jest dostępny na życzenie.

MATERIAŁY NIEZBĘDNE, ALE NIEZAWARTE W ZESTAWIE

- Kalibrowany czytnik mikroplamki (450±10 nm)
- Kalibrowane nastawne precyzyjne mikropipety.
- Bibuła.
- Woda destylowana lub dejonizowana
- Stoper
- Półlogarytmiczny papier lub oprogramowanie do obliczania danych

WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Nieotwarte odczynniki, przechowywane w temperaturze 2 - 8°C, zachowują reaktywność do upływu terminu ważności. Nie stosować odczynników po dekadacie.

Otwarte odczynniki muszą być przechowywane w temperaturze 2 - 8°C. Studzienki muszą być przechowywane w temperaturze 2 - 8°C. Po otwarciu torebki foliowej należy uważnie zamknąć ją szczelnie ponownie.

Otwarte zestawy zachowują aktywność przez sześć tygodni, jeżeli są przechowywane w wyżej opisanych warunkach.

PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

Przed użyciem pozostawić wszystkie odczynniki oraz wymaganą liczbę pasków, do osiągnięcia temperatury pokojowej.

Roztwór Płuczący

Dodać wody dejonizowanej do 40 x stężonego roztworu płuczącego.

Rozcieńczyć 30 ml stężonego roztworu płuczącego w 1170 ml wody dejonizowanej, do końcowej objętości 1200 ml.

Rozcieńczony roztwór płuczący zachowuje stabilność przez 2 miesiące w temperaturze pokojowej.

Utylizacja zestawu

Zestaw należy wyrzucać zgodnie z krajowymi przepisami prawnymi. Specjalne informacje dotyczące niniejszego produktu zawarte są w Karcie Charakterystyki Substancji Niebezpiecznej (patrz punkt 13).

Uszkodzone zestawy testowe

W przypadku każdego poważnego uszkodzenia zestawu testowego lub jego elementów należy poinformować o tym na piśmie DRG[®], nie później niż jeden tydzień po otrzymaniu zestawu. Nie należy w oznaczeniu stosować poważnie uszkodzonych pojedynczych elementów zestawu. Należy je przechowywać do momentu uzgodnienia ostatecznego rozwiązania. Następnie należy się ich pozbyć zgodnie z obowiązującymi przepisami prawnymi.

POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

W tym teście można stosować wyłącznie próbki surowicy.

Nie stosować próbek z makroskopową hemolizą, żółtaczkowych ani lipemicznych.

Uwaga: W tym teście nie należy stosować próbek zawierających azydek sodu.

Pobieranie próbek**Surowica:**

Pobrać krew z żyły (np. przy użyciu Sarstedt Monovette nr 02.1388.001), pozostawić do wytworzenia skrzepu i oddzielić surowicę przez wirowanie w temperaturze pokojowej. Nie wirować próbek przed wytworzeniem skrzepu. U pacjentów otrzymujących leki przeciwkrzepliwe czas powstawania skrzepu może być wydłużony.

Przechowywanie i przygotowanie próbek

Próbki należy zamknąć korkiem i można je przechowywać przed oznaczeniem przez maksymalnie 24 godziny w temperaturze 2 - 8°C. Próbki przechowywane przez dłuższy czas przed oznaczeniem należy zamrozić, jednorazowo, w temperaturze -20°C. Rozmrożone próbki przed oznaczeniem należy kilkakrotnie odwrócić.

Rozcieńczanie próbek

Jeżeli wynik pierwszego oznaczenia wskazuje, że próbka zawiera wyższe stężenie 17- α -OHP niż najwyższy standard, próbkę taką można rozcieńczyć Standardem zero i oznaczyć ponownie, jak opisano w Procedurze oznaczenia.

Przy obliczaniu stężenia estronu w oznaczanej próbce należy wziąć pod uwagę współczynnik rozcieńczenia.

Przykład:

- a. Rozcieńczenie w stosunku 1:10: 10 μ l surowicy + 90 μ l Standardu zero (dobrze wymieszać)
- b. Rozcieńczenie w stosunku 1:100: 10 μ l rozcieńczenia a) 1:10 + 90 μ l Standardu zero (dobrze wymieszać).

PROCEDURA OZNACZENIA

Ogólne uwagi

- Przed użyciem wszystkie odczynniki i próbki należy pozostawić do osiągnięcia temperatury pokojowej. Wszystkie odczynniki należy wymieszać bez wytwarzania piany.
- Po rozpoczęciu oznaczenia wszystkie jego etapy należy wykonywać bez przerw.
- Dla uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego, należy stosować nowe jednorazowe plastikowe końcówki pipet do pipetowania każdego standardu, kontroli i próbek.
- Absorbancja jest funkcją czasu inkubacji i temperatury. Przed rozpoczęciem oznaczenia zaleca się przygotowanie wszystkich odczynników, zdjęcie korków, umieszczenie wszystkich potrzebnych zagłębień w statywie, itp. Dzięki temu każdy etap pipetowania zajmie taką samą ilość czasu i nie będzie pomiędzy nimi żadnych przerw.
- Zgodnie z ogólną zasadą, reakcja enzymatyczna jest liniowo proporcjonalna do czasu i temperatury.

Procedura oznaczenia

W ramach każdego oznaczenia należy sporządzić krzywą stanfordową.

1. W statywie umieścić pożądaną liczbę studzienek.
2. Do odpowiednich zagłębień odmierzyć po **25 μ l standardu, kontroli i próbek, nowymi jednorazowymi końcówkami do pipet.**
3. Inkubować przez **5 minut** w temperaturze pokojowej.
4. Do każdej studzienki odmierzyć **200 μ l Roztworu sprzężonego enzymu.**
5. Dobrze wymieszać przez 10 sekund. Ważne jest, aby w tym etapie dokładnie wymieszać zawartość studzienek.
6. Inkubować przez **60 minut** w temperaturze pokojowej.
7. Energicznie wytrząsnąć zawartość studzienek.
3-krotnie płukać studzienki wodą destylowaną (400 μ l na studzienkę). Energicznie uderzyć płytką ze studzienkami o bibułę w celu usunięcia resztek ich zawartości.
Ważna uwaga: czułość i precyzja tego oznaczenia w dużym stopniu zależą od właściwego wykonania procedury płukania!
8. Do każdej studzienki dodać **200 μ l Roztworu substratu.**
9. Inkubować przez **30 minut** w temperaturze pokojowej.
10. Zatrzymać reakcję enzymatyczną przez dodanie do każdej studzienki **100 μ l Roztworu zatrzymującego reakcję.**
11. Odczytać absorbancję (OD) każdej studzienki przy długości fali **450 \pm 10 nm** przy użyciu czytnika płytek. Zaleca się odczytanie zagłębień w ciągu **10 minut** od dodania *roztworu zatrzymującego reakcję*

Obliczanie wyników

1. Dla każdego zestawu standardów, kontroli i próbek pacjenta obliczyć średnią wartość absorbancji.
2. Skonstruować krzywą wzorcową przez naniesienie średniej absorbancji uzyskanej dla każdego standardu wobec podanego stężenia 17- α -OHP w danym standardzie, przy czym wartość absorbancji należy nanieść na osi pionowej (Y), a stężenie 17- α -OHP na osi poziomej (X).
3. Przy użyciu średniej wartości absorbancji dla każdej próbki, z krzywej wzorcowej określić odpowiednie stężenie 17- α -OHP.
4. Metoda automatyczna: Wyniki w IFU można obliczyć automatycznie przy użyciu dopasowania 4 PL (4-parametrowego logistycznego). Zalecaną metodą jest dopasowanie 4-parametrowe logistyczne. Inne funkcję obróbki danych mogą dać nieco inne wyniki.
5. Stężenie 17- α -OHP w próbkach można odczytać bezpośrednio z tej krzywej wzorcowej. Próbki, w których stężenie 17- α -OHP jest wyższe od stężenia w najwyższym standardzie, należy dodatkowo rozcieńczyć standardem zero. Przy obliczaniu wyników stężenia 17- α -OHP należy uwzględnić ten współczynnik rozcieńczenia.

Przykład typowej krzywej wzorcowej

Poniższe dane przedstawiono wyłącznie w celach ilustracyjnych; **nie wolno** posługiwać się nimi zamiast danych uzyskanych w przeprowadzonym oznaczeniu.

Standard	Jednostki gęstości optycznej (450 nm)
Standard 0 (0 ng/mL)	1,89
Standard 1 (0,15 ng/mL)	1,51
Standard 2 (0,5 ng/mL)	1,10
Standard 3 (1,5 ng/mL)	0,69
Standard 4 (3,0 ng/mL)	0,46
Standard 5 (7,5 ng/mL)	0,28
Standard 6 (20 ng/mL)	0,18

WARTOŚCI OCZEKIWANE

Zdecydowanie zaleca się, aby każde laboratorium określiło własny zakres wartości prawidłowych i nieprawidłowych.

W badaniu przeprowadzonym z udziałem zdrowych dorosłych, uzyskano następujące wartości przy użyciu testu 17- α -OH Progesteron ELISA:

Noworodki	Dziewczęta	Chłopcy	Dziewczęta i Chłopcy
1. miesiąc po urodzeniu	2,4 - 16,8 ng/mL	0,0 - 8,0 ng/mL	0 - 16,8 ng/mL
2. miesiące po urodzeniu	1,6 - 9,7 ng/mL	3,6 - 13,7 ng/mL	1,9 - 9,8 ng/mL
3. miesiące po urodzeniu	0,1 - 3,1 ng/mL	1,7 - 4,0 ng/mL	0,1 - 4,0 ng/mL

Dzieci	3 - 14 lat	0,07 - 1,7 ng/mL
Kobiety w wieku rozrodczym	Faza folikularna:	0,1 - 0,8 ng/mL
	Faza lutealna:	0,6 - 2,3 ng/mL
	Owulacja:	0,3 - 1,4 ng/mL
	Po ACTH:	< 3,2 ng/mL
	Trzeci trymestr:	2,0 - 12 ng/mL
	Kobiety po menopauzie:	0,13 - 0,51 ng/mL
Zdrowi mężczyźni		0,5 - 2,1 ng/mL

Same wyniki badania laboratoryjnego nie powinny nigdy być jedyną podstawą dla decyzji leczniczych. Uzyskane wyniki należy skorelować z obserwacjami klinicznymi i wynikami innych badań diagnostycznych.

KONTROLA JAKOŚCI

Dobra praktyka laboratoryjna wymaga oznaczania kontroli przy okazji sporządzania każdej krzywej wzorcowej. Należy oznaczyć statystycznie istotną liczbę kontroli w celu wyznaczenia wartości średnich i dopuszczalnych przedziałów wartości dla zagwarantowania właściwej charakterystyki testu.

Zaleca się stosowanie próbek kontrolnych, zgodnie ze stanowymi i federalnymi przepisami prawnymi. Zaleca się stosowanie próbek kontrolnych w celu zagwarantowania codziennej wiarygodności wyników oznaczenia. Należy oznaczać próbki kontrole zawierające zarówno prawidłowe, jak i patologiczne stężenia analizowanej substancji.

W certyfikacie kontroli jakości dołączonym do zestawu podano stężenia estronu w odpowiednich kontrolach. Podane wartości i przedziały wartości zawarte w certyfikacie kontroli jakości zawsze dotyczą zestawu o danym numerze serii i nie należy posługiwać się nimi do bezpośredniego porównywania wyników.

Zaleca się także uczestnictwo w krajowych lub międzynarodowych programach oceny jakości w celu zagwarantowania dokładności wyników.

Należy stosować odpowiednie metody statystyczne do analizy wartości kontrolnych. Jeżeli wyniki oznaczenia nie mieszczą się w ustalonych dopuszczalnych przedziałach wartości dla próbek kontrolnych, wyniki uzyskane dla próbek pacjenta należy uznać za niewiarygodne.

W takim przypadku, proszę sprawdzić następujące kwestie: przyrządy do pipetowania i stoper, czytnik, daty ważności odczynników, warunki przechowywania i inkubacji, metody aspiracji i wmywania.

Po sprawdzeniu wspomnianych wyżej kwestii i nie znalezieniu błędu, proszę skontaktować się ze swoim dystrybutorem lub bezpośrednio z firmą DRG.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

Zakres dynamiczny testu

Zakres dynamiczny testu wynosi 0,034 – 20 ng/ml.

Swoistość przeciwciał (reaktywność krzyżowa)

Następujące substancje przebadano pod kątem reaktywności krzyżowej w teście:

Steroid	% reaktywności krzyżowej
17- α -OH progesteron	100,0
Estriol	< 0,01
Estradiol 17 β	< 0,01
Testosteron	< 0,01
Dihydrotestosteron	< 0,01
DOC	0,05
11-dezoksykortyzol	1,4
Progesteron	1,2
DHEA	< 0,01
DHEAS	< 0,001
Kortyzol	< 0,01
Kortykosteron	< 0,05
Aldosteron	< 0,01
Androstendion	< 0,01
Siarczan dehydroepiandrosteronu	< 0,01
Prednizon	< 0,01

9.3 Czulość

Czulość analityczną obliczono jako średnią minus dwa odchylenia standardowe z dwudziestu (20) powtórzeń oznaczenia standardu zero: 0,034 ng/ml.

Precyzja**W obrębie oznaczenia**

Niżej przedstawiono zmienność w obrębie jednego oznaczenia:

Próbka	n	Średnia (ng/ml)	Współczynnik zmienności (%)
1	20	0,5	5,4
2	20	2,8	6,4
3	20	7,2	5,5

W obrębie oznaczenia

Niżej przedstawiono zmienność w obrębie jednego oznaczenia:

Próbka	n	Średnia (ng/ml)	Współczynnik zmienności (%)
1	12	0,5	7,2
2	12	3,0	6,2
3	12	7,8	6,9

Odzysk

Odzysk testu DRG ELISA oznaczano dodając wzrastające ilości 17- α -OH do trzech różnych surowic pacjentów zawierających różne ilości endogennego 17- α -OH. Każdą próbkę (z dodanym 17- α -OH i bez dodanego 17- α -OH) oznaczano i z krzywej wzorcowej określano stężenie 17- α -OH. Procentowy odzysk obliczono porównując stężenia oczekiwane i zmierzone.

Próbka	Stężenie endogenego 17- α -OH (ng/ml)	Stężenie dodanego 17- α -OH (ng/ml)	Zmierzone stężenie 17- α -OH (ng/ml)	Oczekiwane stężenie 17- α -OH (ng/ml)	Odzysk (%)
	11,18	0,00	11,2		
		10,0	13,5	15,6	86,5
1		3,75	9,8	9,3	105,3
		1,50	6,1	7,1	85,9
		0,75	5,4	6,3	85,0
	1,43	0,00	1,4		
		10,00	9,7	10,7	90,2
2		3,75	4,7	4,5	104,3
		1,50	2,5	2,2	111,9
		0,75	1,7	1,5	113,1
	4,68	0,00	4,7		
		10,00	11,2	12,3	90,6
3		3,75	6,0	6,1	99,1
		1,50	3,9	3,8	101,5
		0,75	3,5	3,1	112,8

Liniowość

Próbka	Rozcieńczenie	Zmierzone stężenie 17- α -OH (ng/ml)	Oczekiwane stężenie 17- α -OH (ng/ml)	Odzysk (%)
1	Brak	11,2	11,2	
	1:2	5,4	5,6	97,2
	1:4	2,5	2,8	88,4
	1:8	1,3	1,4	89,6
	1:16	0,7	0,7	102,4
2	Brak	1,4	1,4	
	1:2	0,7	0,7	94,7
	1:4	0,3	0,4	91,4
	1:8	0,2	0,2	86,9
	1:16	0,1	0,1	113,2
3	Brak	4,7	4,7	
	1:2	2,2	2,3	92,1
	1:4	1,0	1,2	85,2
	1:8	0,6	0,6	95,6
	1:16	0,3	0,3	98,8

OGRANICZENIA STOSOWANIA

Wiarygodne i powtarzalne wyniki oznaczenia można otrzymać tylko w przypadku wykonania procedury oznaczenia z pełnym zrozumieniem ulotki informacyjnej i przy przestrzeganiu dobrej praktyki laboratoryjnej.

Każde niewłaściwe postępowanie z próbkami lub modyfikacja testu może wpływać na uzyskane wyniki

Substancje zaburzające oznaczenie

Hemoglobina (w stężeniu do 4 mg/ml), bilirubina (w stężeniu do 0,5 mg/ml) i triglicerydy (w stężeniu do 30 mg/ml) nie wpływają na wyniki oznaczenia.

Leki zaburzające oznaczenie

Dotychczas nie stwierdzono, aby jakiegokolwiek substancje (leki) wywierały wpływ na oznaczenie 17- α -OH progesteronu w próbce.

Efekt zaniżania wyniku oznaczenia przy bardzo wysokim stężeniu oznaczanej substancji

Nie stwierdzono efektu zaniżania wyniku oznaczenia .

ASPEKTY PRAWNE**Wiarygodność wyników testu**

Oznaczenie musi być wykonane ściśle według instrukcji użytku producenta. Dodatkowo użytkownik musi ściśle przestrzegać zasad GLP (Dobrej Praktyki Laboratoryjnej) i innych mających zastosowanie standardów krajowych i/lub przepisów prawnych. Ma to szczególne znaczenie w zakresie stosowania kontrolnych odczynników. Ważne jest, aby w procedurze oznaczenia zawsze uwzględnić wystarczającą liczbę kontroli dla zweryfikowania dokładności i precyzji oznaczenia.

Wyniki oznaczenia są wiarygodne tylko wtedy, gdy wyniki oznaczenia wszystkich kontroli mieszczą się w określonym przedziale wartości i jeżeli wszystkie inne parametry testu są zgodne z podaną specyfikacją oznaczenia. W przypadku wątpliwości proszę kontaktować się z firmą DRG.

Konsekwencje terapeutyczne

Konsekwencje terapeutyczne nie powinny nigdy opierać się na samych wynikach badań laboratoryjnych, nawet jeśli wszystkie wyniki oznaczeń zgodne są z elementami wymienionymi w punkcie 11.1. Każdy wynik badania laboratoryjnego stanowi jedynie część całkowitego obrazu klinicznego pacjenta.

Sam wynik niniejszego testu nie powinien nigdy stanowić podstawy dla żadnych konsekwencji terapeutycznych.

Odpowiedzialność

Wszystkie modyfikacje niniejszego zestawu testowego i/lub wymiana lub wymieszanie jakichkolwiek składników z różnych serii testów mogą mieć niekorzystny wpływ na uzyskane wyniki i wiarygodność całego testu. Takie modyfikacje i/lub wymiany czynią każde żądanie wymiany zestawu testowego bezzasadnym.

Roszczenia składane w związku z błędną interpretacją wyników badań laboratoryjnych zgodnie z punktem 11.2 są także bezzasadne. W przypadku każdego roszczenia odpowiedzialność producenta nie będzie przekraczać wartości zestawu testowego. Producent nie ponosi odpowiedzialności za żadne uszkodzenie zestawu testowego w czasie transportu.

BIBLIOGRAFIA

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 idiopathichirsutism 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 α -hydroxyprogesterone, 17 α -hydroxyprogesterone, 20 α -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 α -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.

DRG



DRG[®] 17- α -OH Progesterone ELISA (EIA-1292)



Revised 1 June 2012 rm (Vers. 10.1)



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. NEngl. 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 nonclassical steroid 21-Hydroxylase deficiency. Norm. Metab. Res. 26:43, 1994