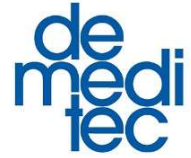


# Product information

Information about other products is available at: [www.demeditec.com](http://www.demeditec.com)



# DHEA ELISA



**DEH3344**



**96**



Demeditec Diagnostics GmbH  
Lise-Meitner-Strasse 2  
24145 Kiel – Germany  
[www.demeditec.com](http://www.demeditec.com)

**CONTENTS / INHALTSVERZEICHNIS / CONTENIDO**

1	INTRODUCTION .....	3
2	PRINCIPLE .....	3
3	WARNINGS AND PRECAUTIONS .....	3
4	REAGENTS .....	4
5	SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE .....	5
6	ASSAY PROCEDURE .....	5
7	EXPECTED VALUES.....	6
8	QUALITY CONTROL .....	7
9	PERFORMANCE CHARACTERISTICS .....	7
10	LIMITATIONS OF PROCEDURE.....	9
11	LEGAL ASPECTS.....	9
12	REFERENCES .....	10
1	EINLEITUNG .....	11
2	TESTPRINZIP.....	11
3	WARNUNGEN & VORISCHTSHINWEISE .....	11
4	BESTANDTEILE DES KITS .....	12
5	PROBENENTNAHME UND VORBEREITUNG .....	13
6	TESTDURCHFÜHRUNG.....	14
7	ERWARTETE WERTE.....	15
8	QUALITÄTSKONTROLLE .....	15
9	ASSAY CHARAKTERISTIKA.....	16
10	GRENZEN DES TESTS.....	17
11	RECHTLICHE GRUNDLAGEN.....	18
12	REFERENZEN.....	18
1	INTRODUCCIÓN .....	19
2	PRINCIPIO.....	19
3	ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES .....	19
4	REACTIVOS .....	20
5	TOMA Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS .....	21
6	PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO .....	22
7	VALORES ESPERADOS.....	23
8	CONTROL DE CALIDAD.....	23
9	CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO.....	23
10	LIMITACIÓN DEL PROCEDIMIENTO .....	25
11	ASPECTOS LEGALES .....	26
12	REFERENCIAS .....	26

## 1 INTRODUCTION

### 1.1 Intended Use

Enzyme immunoassay for the quantitative determination of Dehydroepiandrosterone (DHEA) in human serum and plasma (EDTA or citrate plasma).

The assay is intended for in vitro diagnostic use by professional users only. Manual processing is recommended. The usage of laboratory automats is the user's sole responsibility.

The kit is intended for single use only.

### 1.2 Description of the analyte

Dehydroepiandrosterone (DHEA) is a steroid hormone that is produced in the adrenal glands. Together with its sulfate ester DHEA-S, it is quantitatively the main secretion product of the adrenal glands and serves as a precursor of androgenic and estrogenic steroids. DHEA and DHEA-S are in balance. The concentration of DHEA-S is about 1,000 times higher than of DHEA (1, 4).

The fetal adrenal gland produces large amounts of DHEA and DHEA-S during fetal development and decreases significantly in the first months of life. The adrenal secretion of DHEA and DHEA-S then increases again during the adrenal phase in children aged 6-8 years. Maximum levels of circulating DHEA-S and DHEA are reached between 20 and 30 years of age. After that, the levels of serum DHEA and DHEA-S decrease (1, 2, 3).

The measurement of DHEA in serum is a useful marker of adrenal androgen synthesis. Elevated levels occur under various conditions, including 11 $\beta$ -hydroxylase and 3-hydroxysteroid dehydrogenase deficiencies, and in some cases female hirsutism (4). Since very little DHEA is produced by the gonads, measurement of DHEA levels can help to locate the source of androgen under virilizing conditions.

Abnormal DHEA levels have been reported in schizophrenia and obesity. Therapeutic administration of DHEA has been proposed for several conditions, including obesity and cardiovascular disease.

## 2 PRINCIPLE

The Demeditec DHEA ELISA Kit is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), based on the principle of competitive binding.

The microtiter wells are coated with an anti DHEA antibody. An unknown amount of DHEA present in the sample competes with a DHEA-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 DHEA in the sample. After addition of the substrate solution, the intensity of color developed is inversely proportional to the concentration of DHEA in the sample. A standard curve is constructed by plotting OD values against concentrations of standards, and concentrations of unknown samples are determined using this standard curve.

## 3 WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. This kit is for in vitro diagnostic use only. For professional use only.
2. 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.
3. All human source material used in the preparation of the reagents has been tested and found negative for antibody to HIV 1&2, HbsAg, and HCV. No test method however can offer complete assurance that HIV, HBV, HCV or other infectious agents are absent. Therefore, the reagents should be handled in the same manner as potentially infectious material.
4. The microplate contains break apart strips. Unused wells must be stored at 2-8°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 substrate solution that had previously been used for conjugate solution may turn solution coloured. 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 washing steps.
9. Allow the reagents to reach room temperature (18-25°C) before starting the test. Temperature will affect the absorbance readings of the assay.
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 protective 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 be slightly different.
17. Avoid contact with Stop Solution. It may cause skin irritation and burns.
18. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guideline or regulation.
19. For information please refer to Safety Data Sheets. Safety Data Sheets for this product are available upon request directly from Demeditec Diagnostics GmbH or on Demeditec homepage ([www.demeditec.com](http://www.demeditec.com)).
20. All serious incidents occurring in relation to products made available on the EU market in accordance with Article 2(61) of Regulation (EU) 2017/746 shall be notified to the manufacturer and to the competent authority of the Member State where the user or patient is established in accordance with Article 82 of Regulation (EU) 2017/746.
21. If product information, including labeling, is incorrect or inaccurate, please contact the kit manufacturer or supplier.

## 4 REAGENTS

### 4.1 Reagents provided

1. **SORB | MT** Microtiterplate, 12 x 8 (break apart) strips with 96 wells; wells coated with anti-DHEA antibody.
2. **CAL | 0-5** Calibrators (Calibrator 0-5), 6 vials, 0.6 ml each, ready to use.  
Serum matrix spiked with defined quantity of DHEA.  
Concentrations: 0 – 0.3 – 1 – 3 – 10 – 30 ng/ml.
3. **CONTROL | 1-2** Control 1 (low) / Control 2 (high), 2 vials, 0.6 ml each, ready to use.  
Serum matrix with defined quantity of DHEA .  
For control values and ranges please refer to QC-Datasheet.
4. **ENZ | CONJ** Enzyme Conjugate, 1 vial, 13 ml, ready to use; horseradish peroxidase-labelled DHEA in buffered matrix.
5. **SUB | TMB** Substrate Solution, 1 vial, 26 ml, ready to use; contains Tetramethyl-benzidine (TMB).
6. **STOP | SOLN** Stop Solution, 1 vial, 9.0 ml, ready to use; contains 2 N hydrochloric acid solution.  
Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.
7. **WASH | SOLN | 10x** Wash Solution, 1 vial, 50 ml (10x concentrated); see “Reagent Preparation” (4.4).

### 4.2 Materials required but not provided

- A microtiter plate reader capable for endpoint measurement at 450 nm
- Calibrated variable precision micropipettes
- Microplate mixer operating at 900 rpm
- Absorbent paper
- Distilled or deionized water
- Timer
- Semi logarithmic graph paper or software for data reduction

### 4.3 Storage conditions

When stored at 2-8°C unopened reagents will be stable until expiration date. Do not use reagents beyond this date. Opened reagents must be stored at 2-8°C. After first opening the reagents are stable for 30 days if used and stored properly. Keep away from heat and direct sunlight. Microtiter wells must be stored at 2-8°C. Take care that the foil bag is sealed tightly.

#### 4.4 Reagent preparation

Allow the reagents and the required number of wells to reach room temperature (18-25°C) before starting the test.

#### Wash Solution:

Dilute 50 ml of 10x concentrated Wash Solution with 450 ml deionized water to a final volume of 500 ml. The diluted Wash Solution is stable for at least 12 weeks at room temperature (18-25°C). Precipitates may form when stored at 2-8°C, which should dissolve again by swirling at room temperature (18-25°C). The wash solution should only be used when the precipitates have completely dissolved.

#### 4.5 Disposal of the kits

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

#### 4.6 Damaged test kits

In case of any severe damage of the test kit or components, Demeditec Diagnostics GmbH has to be informed in writing within 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 STORAGE

For determination of DHEA **serum or plasma (EDTA, citrate plasma)** can be used.

The usual precautions for venipuncture should be observed. It is important to preserve the chemical integrity of a blood specimen from the moment it is collected until it is assayed. Do not use hemolytic, icteric or lipemic specimens. Furthermore, we recommend special caution when using serum gel collection systems, as an influence on the measurement results cannot be excluded in case of improper handling. Samples containing sodium azide should not be used in the assay.

The procedure calls for 25 µl sample per well. The samples should be assayed immediately or aliquoted and stored at ≤ -20°C up to 12 months. Avoid repeated freeze-thaw cycles. Samples expected to contain DHEA concentrations higher than the highest calibrator (30 ng/ml) should be diluted with the Calibrator 0 before assayed. The additional dilution step has to be taken into account for the calculation of the results.

### 6 ASSAY PROCEDURE

#### 6.1 General Remarks

- All reagents and specimens must be allowed to come to room temperature (18-25°C) 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.
- Optical density 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.
- Respect the incubation times as stated in this instructions for use.
- Calibrators, controls, and samples should at least be assayed in double determinations.
- A calibrator curve must be established for every run

#### 6.2 Assay procedure

1. Prepare a sufficient number of microplate wells to accommodate calibrators, controls and samples in duplicates.
2. Dispense **25 µl** of each **Calibrator, Sample, and Controls** with new disposable tips in duplicates into appropriate wells.
3. Dispense **100 µl** of **Enzyme Conjugate** into each well.
4. Incubate for **60 minutes** at room temperature (18-25°C) on a plate shaker (900 rpm).
5. Discard the content of the wells and rinse the wells **4 times** with diluted **Wash Solution** (300 µl per well). Remove as much Wash Solution as possible by beating the microplate on absorbent paper.
6. Add **200 µl** of **Substrate Solution** to each well.
7. Incubate without shaking for **30 minutes** at room temperature (18-25°C) in the dark.
8. Stop the reaction by adding **50 µl** of **Stop Solution** to each well.
9. Determine the optical density of each well at 450 nm and read the wells within 15 minutes.

### 6.3 Calculation of results

1. Calculate the average optical density (OD) values for each set of calibrators, controls, and samples.
2. The obtained optical densities of the standards (y-axis, linear) are plotted against their corresponding concentrations (x-axis, logarithmic) either on semi-logarithmic paper or using an automated method.
3. Using the mean OD value for each sample, determine the corresponding concentration from the calibration curve.
4. Automated method: The results in the package insert have been calculated automatically using a 4 PL (4 Parameter Logistics) curve fit. 4 Parameter Logistics is the preferred calculation method. Other data reduction functions may give slightly different results.
5. The concentration of the samples can be determined directly from this calibrator curve. Samples with concentrations higher than that of the highest calibrator have to be further diluted with Calibrator 0 and assayed again. For the calculation of the concentrations, this dilution factor has to be taken into account.

#### Example of typical calibrator curve

Following data are intended for illustration only and must not be used to calculate results from another run.

Standard	Optical Density (450nm)
Calibrator 0 (0 ng/ml)	3.003
Calibrator 1 (0.3 ng/ml)	2.501
Calibrator 2 (1 ng/ml)	1.912
Calibrator 3 (3 ng/ml)	1.220
Calibrator 4 (10 ng/ml)	0.647
Calibrator 5 (30 ng/ml)	0.341

## 7 EXPECTED VALUES

It is strongly recommended that each laboratory should determine its own normal and pathological values. Samples from apparently normal healthy adults, collected in the morning, were analyzed using the Demeditec DHEA ELISA and the following values were observed:

Population	n	ng/ml			
		Range	Median	2.5 percentile	97.5 percentile
<b>Female &lt;50 years</b>	39	1.9 - 12.6	4.9	2.2	12.0
<b>Female ≥50 years</b>	20	1.1 - 5.4	2.4	1.1	4.7
<b>Male &lt;50 years</b>	20	2.4 - 15.8	5.7	2.7	15.3
<b>Male ≥50 years</b>	22	0.3 - 5.6	2.0	0.7	4.8

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

## 8 QUALITY CONTROL

Good laboratory practice requires that controls are 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 included in the kit. The values and ranges stated on the QC certificate 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, microtiter plate reader, 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 Demeditec directly.

## 9 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 9.1 Analytical Sensitivity

The lowest analytical detectable level of DHEA that can be distinguished from the Zero Calibrator is 0.082 ng/ml at the 2SD confidence limit.

### 9.2 Specificity (Cross Reactivity)

The following materials have been evaluated for cross reactivity. The percentage indicates cross reactivity at 50% displacement compared to DHEA.

Steroid	% Cross reaction
DHEA-S	0.06
Testosterone	< 0.02
Androstendione	< 0.02
Progesterone	0.03
17 $\alpha$ -Hydroxyprogesterone	< 0.02
Pregnenolone	0.03
Prednisone	< 0.02
Prednisolone	< 0.02
Corticosterone	< 0,02
11-Deoxycorticosterone	0.2
Cortisol	< 0.02
11-Deoxycortisol	< 0.02
Cortisone	< 0.02
Dexamethasone	< 0.02
17 $\beta$ -Estradiol	< 0.02
Estrone	< 0.02
Estriol	< 0.02
Danazole	< 0.02

### 9.3 Assay dynamic range

The range of the assay is between 0.3 - 30 ng/ml.

**9.4 Reproducibility****9.4.1 Intra-Assay**

The intra-assay variation was determined by 20 replicate measurements of three serum samples within one run. The intra-assay variability is shown below:

	<b>Serum 1</b>	<b>Serum 2</b>	<b>Serum 3</b>
<b>Mean (ng/ml)</b>	2.01	6.02	27.63
<b>SD</b>	0.17	0.39	2.13
<b>CV (%)</b>	8.2	6.4	7.7
<b>n =</b>	20	20	20

**9.4.2 Inter-Assay**

The inter-assay variation was determined by duplicate measurements of three serum samples in ten different runs.

	<b>Serum 1</b>	<b>Serum 2</b>	<b>Serum 3</b>
<b>Mean (ng/ml)</b>	1.74	5.86	14.61
<b>SD</b>	0.18	0.35	0.69
<b>CV (%)</b>	10.3	6.0	4.7
<b>n =</b>	10	10	10

**9.5 Recovery**

Recovery was determined by adding increasing amounts of the analyte to three different samples containing different amounts of endogenous analyte. Each sample (non-spiked and spiked) was measured by the Demeditec DHEA ELISA. The percentage recoveries were determined by comparing expected and observed results of the samples.

<b>Serum</b>	<b>Spiking (ng/ml)</b>	<b>Observed (ng/ml)</b>	<b>Expected (ng/ml)</b>	<b>Recovery (%)</b>
<b>1</b>	-	0.74	-	-
	3.0	3.74	3.7	100
	6.0	6.97	6.7	103
	9.0	9.57	9.7	98
<b>2</b>	-	3.71	-	-
	3.0	7.09	6.7	106
	6.0	9.49	9.7	98
	9.0	12.52	12.7	99
<b>3</b>	-	3.73	-	-
	3.0	6.69	6.7	99
	6.0	10.30	9.7	106
	9.0	13.75	12.7	108



## 9.6 Linearity

Three serum samples were assayed undiluted and diluted with the zero calibrator. The percentage linearity was calculated by comparing the expected and observed values.

Serum	Dilution	Observed (ng/ml)	Expected (ng/ml)	Linearity (%)
1	-	17.36	-	-
	1 : 2	8.35	8.7	96
	1 : 4	4.11	4.3	95
	1 : 8	1.86	2.2	86
2	-	15.18	-	-
	1 : 2	7.58	7.6	100
	1 : 4	3.81	3.8	100
	1 : 8	1.69	1.9	89
3	-	11.04	-	-
	1 : 2	5.57	5.5	101
	1 : 4	2.89	2.8	105
	1 : 8	1.51	1.4	109

## 10 LIMITATIONS OF PROCEDURE

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

- Hemolytic samples should not be used in the DHEA ELISA to exclude any interferences.
- Bilirubin (up to 0.2 mg/ml), and Lipids (up to 30 mg/ml) show no influence on the assay results. However, we recommend not to use any icteric or lipemic specimens to avoid any interferences.
- Samples containing sodium azide should not be used in the assay.
- The result of any immunological test system may be affected by heterophilic antibodies, anti-species antibodies or rheumatoid factors present in human samples. For example, the presence of heterophilic antibodies in patients who are regularly exposed to animals or animal products may interfere with immunological tests. Therefore, interference with this in vitro immunoassay cannot be excluded. If unplausible results are suspected, they should be considered invalid and verified by further testing. For diagnostic purposes, results should always be considered only in conjunction with the patient's clinical picture and further diagnostic tests.

### 10.2 Drug Interferences

Any medication (cream, oil, pill etc.) containing DHEA, or DHEA-S will significantly influence the measurement of this analyte. Any medication should be taken into account when assessing the results.

## 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 a sufficient number of controls within the test procedure 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 Demeditec.

### 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 therapeutic consequences should 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**

1. Labrie F, Luu-The V, Belanger A, Lin SX, Simard J, Pelletier G, Labrie C.: Is dehydroepiandrosterone a hormone?, *J Endocrinol.* 2005 Nov;187(2):169-96.
2. Carlstrom K, Brody S, Lunell NO, Lagrelus A, Mollerstrom G, Pousette A, Rannevik G, Stege R, von Schoultz B.; Dehydroepiandrosterone sulphate and dehydroepiandrosterone in serum: differences related to age and sex. *Maturitas.* 1988 Dec;10(4):297-306
3. Rainey WE & Nakamura Y.: Regulation of the Adrenal Androgen Biosynthesis *J Steroid Biochem Mol Biol* 2008 February; 108(3-5): 281-286
4. Thomas L. Labor und Diagnose – Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. 8. Auflage
5. Marks V.: False-Positive Immunoassay Results: A Multicenter Survey of Erroneous Immunoassay Results from Assays of 74 Analytes in 10 Donors from 66 Laboratories in Seven Countries *Clinical Chemistry* 2002, 48:11: 2008-2016
6. Tate & Ward (2004) Interferences in Immunoassays, *Clin. Biochem Rev* Vol 25, May 2004
7. Selby (1999): Interference in immunoassays; *Ann. Clin. Biochem* 1999, 36: 704-721

## 1 EINLEITUNG

### 1.1 Zweckbestimmung

Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Dehydroepiandrosteron (DHEA) in humanem Serum und Plasma (EDTA oder Citratplasma).

Dieser Test ist nur für *in-vitro*-diagnostische Anwendungen durch geschultes Laborpersonal bestimmt. Die manuelle Abarbeitung wird empfohlen. Der darüberhinausgehende Einsatz von Laborautomaten liegt in der Verantwortung des Anwenders. Das Kit ist zum einmaligen Gebrauch bestimmt.

### 1.2 Beschreibung des Analyten

Dehydroepiandrosteron (DHEA) ist ein Steroidhormon, welches in den Nebennieren gebildet wird. DHEA und sein Sulfatester DHEA-S sind mengenmäßig die wesentlichen Sekretionsprodukte der Nebennieren und dienen als Vorläufer androgener und östrogenen Steroide. DHEA und DHEA-S stehen im Gleichgewicht. Die Konzentration von DHEA-S ist etwa 1000-fach höher als die von DHEA (1, 4).

Die fetale Nebenniere produziert während der fetalen Entwicklung große Mengen an DHEA und DHEA-S und nimmt in den ersten Lebensmonaten signifikant ab. Die Nebennierensekretion von DHEA und DHEA-S steigt dann wieder während der Adrenarche bei Kindern im Alter von 6-8 Jahren. Maximale Werte des zirkulierenden DHEA und DHEA-S werden im Alter zwischen 20 und 30 Jahren erreicht. Danach sinkt der Gehalt an Serum DHEA und DHEA-S (1, 2, 3).

Die Messung von DHEA im Serum ist ein nützlicher Marker der adrenalen Androgensynthese. Erhöhte Spiegel treten unter verschiedenen Bedingungen auf; dazu gehören 11 $\beta$ -Hydroxylase- und 3-Hydroxysteroiddehydrogenase-Mängel und in einigen Fällen weiblicher Hirsutismus (4). Da von den Keimdrüsen nur sehr wenig DHEA produziert wird, kann die Messung des DHEA-Spiegels zur Lokalisierung der Androgenquelle unter virilisierenden Bedingungen beitragen. Abnormale DHEA-Spiegel wurden bei Schizophrenie und Adipositas berichtet. Die therapeutische Verabreichung von DHEA wurde für verschiedene Erkrankungen vorgeschlagen, darunter Adipositas und kardiovaskuläre Erkrankungen.

## 2 TESTPRINZIP

Der Demeditec DHEA ELISA ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay, der auf dem Prinzip der kompetitiven Bindung basiert. Die Vertiefungen der Mikrotiterplatten sind mit einem anti-DHEA-Antikörper beschichtet.

Die Proben werden in die beschichteten Vertiefungen gegeben und zusammen mit einem DHEA-Peroxidase-Konjugat inkubiert. Während der Inkubation konkurriert das DHEA der Probe mit dem DHEA-Enzymkonjugat um die freien Bindungsstellen auf den beschichteten Vertiefungen. Das nicht gebundene Konjugat wird durch Waschen der Vertiefungen entfernt. Anschließend wird die Substratlösung zugegeben und die Farbentwicklung nach einer definierten Zeit gestoppt. Die Intensität der gebildeten Farbe ist umgekehrt proportional zur DHEA-Konzentration der Probe. Die Extinktion wird bei 450 nm mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät gemessen. Durch Auftragen der OD-Werte gegen die Konzentrationen der Standards wird eine Standardkurve erstellt, und die Konzentrationen der unbekanntenen Proben werden anhand dieser Standardkurve bestimmt.

## 3 WARNUNGEN & VORISCHTSHINWEISE

1. Dieses Kit ist nur zum *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch geeignet und sollte nur von medizinischem Fachpersonal durchgeführt werden.
2. Vor der Testdurchführung sollte die Arbeitsanleitung vollständig und sorgfältig gelesen werden und verstanden worden sein. Die gültige Version aus dem Kit verwenden.
3. Humanes Material, das bei der Herstellung verwendet wird, wurde negativ auf Antikörper gegen HIV 1&2, HbsAg und HCV getestet. Keine Testmethode kann jedoch die vollständige Sicherheit bieten, dass HIV, HBV, HCV oder andere infektiöse Erreger nicht vorhanden sind. Daher sollten die Reagenzien genauso behandelt werden wie potenziell infektiöses Material.
4. Die Mikrotiterplatte enthält teilbare, einzeln brechbare Mikrotiterstreifen. Unbenutzte Mikrotiterstreifen müssen im verschlossenen Folienbeutel bei 2-8°C aufbewahrt werden und im mitgelieferten Rahmen verwendet werden.
5. Proben und Reagenzien sollten so schnell wie möglich und in einer gleichbleibenden Sequenz pipettiert werden.
6. Für jedes Reagenz einen separaten Pipettenaufsatz verwenden. Das gilt besonders für die Substratlösung. Wenn der Pipettenaufsatz der Substratlösung vorher z.B. für das Konjugat verwendet wurde, kommt es zu einem Farbumschlag der Substratlösung. Reagenzien nie zurück ins Fläschchen überführen, da so Reagenz-Kontaminationen verursacht werden können.

7. Den Inhalt der Mikrotiterplatte sorgfältig mischen, um gute Testergebnisse zu gewährleisten. Mikrotiterplatten nicht wiederverwenden!
8. Mikrotiterstreifen nicht austrocknen lassen während des Testlaufes. Nach jedem Waschschrift zügig im Testprotokoll fortfahren.
9. Reagenzien vor dem Testansatz auf Raumtemperatur (18-25°C) bringen. Die Temperatur hat einen Einfluss auf die Bestimmung der Optischen Dichte.
10. Nicht mit dem Mund pipettieren und Kontakt von Kitbestandteilen und Proben mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
11. In den Bereichen, in denen Proben oder Kitbestandteile verwendet werden, nicht rauchen, essen, trinken oder Kosmetika verwenden.
12. Beim Umgang mit Proben oder Reagenzien Einweg-Handschuhe tragen. Die Verunreinigung von Reagenzien oder Proben mit Mikroben kann zu falschen Ergebnissen führen.
13. Der Gebrauch sollte in Übereinstimmung mit den Verfahren erfolgen, welche durch eine nationale Gefahrenstoff-Sicherheitsrichtlinie festgelegt sind.
14. Reagenzien nicht nach dem auf dem Kit-Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.
15. Alle in der Packungsbeilage angegebenen Mengen müssen genau eingehalten werden. Optimale Ergebnisse können nur durch Verwendung kalibrierter Pipetten und Mikrotiterplatten-Lesegeräte erreicht werden.
16. Komponenten von Kits mit unterschiedlichen Lotnummern nicht untereinander austauschen oder mischen. 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 Bindungscharakteristika der Platten leicht unterschiedlich ausfallen.
17. Der Kontakt mit der Stopplösung sollte vermieden werden, da sie Hautreizungen und Verätzungen verursachen kann.
18. Die Reagenzien des Kits sind als gesundheitsgefährdende Abfälle zu betrachten und gemäß den nationalen Vorschriften zu entsorgen.
19. Informationen zu im Kit enthaltenen gefährlichen Substanzen entnehmen Sie bitte dem Material Sicherheitsdatenblatt. Material Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage direkt von der Firma Demeditec Diagnostics GmbH erhältlich. Sie finden diese auch unter [www.demeditec.de](http://www.demeditec.de) zum Herunterladen.
20. Alle im Zusammenhang mit den Produkten, die auf dem EU-Markt bereitgestellt werden, auftretende schwerwiegende Ereignisse gemäß VERORDNUNG (EU) 2017/746 Artikel 2, Absatz 61 sind dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaates, in dem der Anwender oder Patient niedergelassen ist, gemäß VERORDNUNG (EU) 2017/746 Artikel 82 zu melden.
21. Sollten Produktinformationen, einschließlich Etikettierung falsch oder inkorrekt sein, bitte den Hersteller oder den Lieferanten des Kits kontaktieren.

## 4 BESTANDTEILE DES KITS

### 4.1 Kitinhalt

1. **SORB | MT** Mikrotiterplatte, 12 x 8 (einzeln brechbare) Mikrotiterstreifen mit 96 Vertiefungen beschichtet mit einem anti-DHEA-Antikörper.
2. **CAL | 0-5** Standard (Standard 0-5), 6 Fläschchen, je 0,6 ml, gebrauchsfertig.  
Serummatrix versetzt mit definierter Menge DHEA.  
Konzentrationen: 0 – 0.3 – 1 – 3 – 10 – 30 ng/ml.
3. **CONTROL | 1-2** Kontrolle 1 (niedrig) / Kontrolle 2 (hoch), 2 Fläschchen, je 0,6 ml, gebrauchsfertig; Serummatrix versetzt mit definierter Menge DHEA. Kontrollwerte und -bereiche sind dem QC-Datenblatt zu entnehmen.
4. **ENZ | CONJ** Enzymkonjugat, 1 Fläschchen, 13 ml, gebrauchsfertig; DHEA mit Meerrettichperoxidase konjugiert.
5. **SUB | TMB** Substratlösung, 1 Fläschchen, 26 ml, gebrauchsfertig; enthält Tetramethylbenzidin (TMB).
6. **STOP | SOLN** Stopplösung, 1 Fläschchen, 9,0 ml, gebrauchsfertig; enthält 2 N Salzsäure. Kontakt mit der Stopplösung vermeiden! Kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.
7. **WASH | SOLN | 10x** Waschlösung, 1 Fläschchen, 50 ml (10x konzentriert); siehe „Vorbereitung der Reagenzien“ (siehe 4.4).

#### 4.2 Nicht im Kit enthaltene aber erforderliche Geräte und Materialien

- Kalibriertes Mikrotiterplatten-Lesegerät mit 450-nm- Filter
- Kalibrierte variable Präzisions-Mikropipetten
- Mikrotiterplatten-Schüttler mit 900 rpm
- Saugfähiges Papier
- Aqua dest. oder deionisiertes Wasser
- Zeitnahmegerät
- Semilogarithmisches Papier oder Software zur Datenverarbeitung

#### 4.3 Lagerung und Haltbarkeit des Kits

Die ungeöffneten Reagenzien behalten bei Lagerung um 2-8°C ihre Reaktivität bis zum Verfallsdatum. Nach dem Verfallsdatum die Reagenzien nicht mehr verwenden! Nach dem Öffnen sollten alle Reagenzien bei 2-8°C gelagert werden. Nach dem ersten Öffnen sind die Reagenzien bei sachgemäßer Abarbeitung und Lagerung 30 Tage stabil. Vor Hitze und direkter Sonneneinstrahlung schützen. Die Mikrotiterstreifen sollten bei 2-8°C gelagert werden. Der einmal geöffnete Folienbeutel sollte stets sehr sorgfältig wieder verschlossen werden.

#### 4.4 Vorbereitung der Reagenzien

Alle Reagenzien sowie die benötigte Anzahl von Mikrotiterstreifen sollen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (18-25°C) gebracht werden.

#### Waschlösung:

Die 10-fach konzentrierte Waschlösung (50 ml) mit 450 ml deionisiertem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 500 ml verdünnen. Die verdünnte Waschlösung ist bei Raumtemperatur (18-25°C) für mindestens 12 Wochen stabil. Bei einer Lagerung bei 2-8°C können sich Präzipitate bilden, die sich durch Schwenken bei Raumtemperatur wieder auflösen sollten (18-25°C). Die Waschlösung sollte erst verwendet werden, wenn sich die Präzipitate komplett aufgelöst haben.

#### 4.5 Entsorgung des Kits

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

#### 4.6 Beschädigte Testkits

Im Falle einer starken Beschädigung des Testkits oder der Komponenten muss die Firma Demeditec Diagnostics GmbH 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 PROBENENTNAHME UND VORBEREITUNG

Zur Bestimmung von DHEA ist **Serum und Plasma (EDTA, Citratplasma)** geeignet.

Es sollten die üblichen Vorsichtsmaßnahmen für die Venenpunktion beachtet werden. Es ist wichtig, die chemische Integrität einer Blutprobe vom Zeitpunkt der Entnahme bis zur Untersuchung zu erhalten. Verwenden Sie keine hämolytischen, ikterischen oder lipämischen Proben. Des Weiteren ist bei der Verwendung von Serum-Gel-Entnahmesystemen besondere Vorsicht geboten, da bei unsachgemäßer Handhabung eine Beeinflussung der Messergebnisse nicht ausgeschlossen werden kann.

Proben, die Natriumazid enthalten, sollten nicht verwendet werden.

Für eine Bestimmung werden 25 µl Probenvolumen benötigt. Die Proben sollten unverzüglich verwendet oder aliquotiert bei ≤ -20°C bis zu 12 Monate gelagert werden. Wiederholte Tau-Gefrierzyklen sind zu vermeiden. Proben mit einer erwarteten DHEA-Konzentration höher als der höchste Standard (30 ng/ml) vor Durchführung des Tests mit Standard 0 verdünnen. Die zusätzliche Verdünnung muss bei der Kalkulation der Ergebnisse berücksichtigt werden.

## 6 TESTDURCHFÜHRUNG

### 6.1 Allgemeine Hinweise

- Alle Reagenzien und Proben müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18-25°C) gebracht und gut durchgemischt 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 sollte eine neue Pipettenspitze verwendet werden, um Verschleppungen zu vermeiden.
- Die Optische Dichte 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 Vertiefungen 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.
- Die in der Arbeitsanleitung angegebenen Inkubationszeiten müssen eingehalten werden.
- Standards, Kontrollen und Proben sollten mindestens in Doppelansätzen bestimmt werden.
- Jeder Testlauf muss eine eigene Standardkurve beinhalten.

### 6.2 Testdurchführung

1. Die benötigte Anzahl an **Mikrotiterstreifen** für Standards, Kontrollen und Proben in Doppelbestimmung in der Halterung befestigen.
2. Je **25 µl Standards, Kontrollen und Proben mit neuen Plastikspitzen** in Doppelbestimmung in die entsprechenden Vertiefungen geben.
3. **100 µl Enzymkonjugat** in jede Vertiefung geben.
4. **60 Minuten** bei Raumtemperatur (18-25°C) auf einem Mikrotiterplatten-Schüttler (900 rpm) inkubieren.
5. Den Inhalt der Vertiefungen kräftig ausschütten. Vertiefungen **4mal** mit verdünnter **Waschlösung** (300 µl pro Vertiefung) waschen. Restliche Flüssigkeit durch Ausklopfen der Mikrotiterplatte auf saugfähigem Papier entfernen.
6. **200 µl Substratlösung** in jede Vertiefung geben.
7. **30 Minuten** bei Raumtemperatur (18-25°C) im Dunkeln inkubieren.
8. Die enzymatische Reaktion durch Zugabe von **50 µl Stopplösung** in jede Vertiefung abstoppen.
9. Die Optische Dichte bei **450 nm** mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät innerhalb von 15 Minuten nach Zugabe der Stopplösung bestimmen.

### 6.3 Ergebnisermittlung

1. Die Mittelwerte der Optischen Dichte (OD) für jedes Set von Standards, Kontrollen und Proben bestimmen.
2. Die erhaltenen OD-Werte der Standards (y-Achse, linear) werden gegen ihre Konzentration (x-Achse, logarithmisch) entweder auf semi-logarithmischem Papier oder mit einer automatisierten Methode aufgetragen.
3. Unter Verwendung der mittleren OD 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) bestimmt. Andere Auswertungsfunktionen können 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 mit Standard 0 verdünnt und neu gemessen werden. Dieser Verdünnungsfaktor muss bei der Berechnung der Konzentration berücksichtigt werden.

**Beispiel für eine Standardkurve**

Nachfolgend wird ein typisches Beispiel für eine Standardkurve mit dem Demeditec DHEA ELISA gezeigt. Diese darf nicht zur Kalkulation eines anderen Testlaufes verwendet werden.

Standard	Optische Dichte (450nm)
Calibrator 0 (0 ng/ml)	3,003
Calibrator 1 (0,3 ng/ml)	2,501
Calibrator 2 (1 ng/ml)	1,912
Calibrator 3 (3 ng/ml)	1,220
Calibrator 4 (10 ng/ml)	0,647
Calibrator 5 (30 ng/ml)	0,341

**7 ERWARTETE WERTE**

Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen normalen und pathologischen Werte ermittelt. Proben von gesunden Erwachsenen wurden vormittags entnommen und untersucht. Dabei ergaben sich mit dem Demeditec DHEA ELISA folgende Werte:

Population	n	ng/ml			
		Bereich	Median	2.5 Perzentile	97.5 Perzentile
<b>Frauen &lt;50 Jahre</b>	39	1,9 - 12,6	4,9	2,2	12,0
<b>Frauen ≥50 Jahre</b>	20	1,1 - 5,4	2,4	1,1	4,7
<b>Männer &lt;50 Jahre</b>	20	2,4 - 15,8	5,7	2,7	15,3
<b>Männer ≥50 Jahre</b>	22	0,3 - 5,6	2,0	0,7	4,8

Diagnostische und therapeutische Konsequenzen sollten nicht allein auf Basis der mit diesem Test ermittelten Ergebnisse getroffen werden, sondern unter Berücksichtigung klinischer Beobachtungen und weiterer diagnostischer Tests.

**8 QUALITÄTSKONTROLLE**

Es wird empfohlen, 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 normalen als auch pathologischen Werten eingesetzt werden.

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

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 Demeditec in Verbindung.

## 9 ASSAY CHARAKTERISTIKA

### 9.1 Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität, definiert als Mittelwert abzüglich der zweifachen Standardabweichung des Standards 0, beträgt 0,082 ng/ml.

### 9.2 Spezifität der Antikörper (Kreuzreaktivität)

Die folgenden Materialien wurden auf Kreuzreaktivität untersucht. Der Prozentsatz gibt die Kreuzreaktivität bei 50% Verdrängung im Vergleich zu DHEA an.

Steroid	% Kreuzreaktivität
DHEA-S	0,06
Testosteron	< 0,02
Androstendion	< 0,02
Progesteron	0,03
17 $\alpha$ -Hydroxyprogesteron	< 0,02
Pregnenolon	0,03
Prednison	< 0,02
Prednisolon	< 0,02
Corticosteron	< 0,02
11-Deoxycorticosteron	0,2
Cortisol	< 0,02
11-Deoxycortisol	< 0,02
Cortison	< 0,02
Dexamethason	< 0,02
17 $\beta$ -Estradiol	< 0,02
Estron	< 0,02
Estriol	< 0,02
Danazol	< 0,02

### 9.3 Messbereich

Der Messbereich des Testes liegt zwischen 0,3 - 30 ng/ml.

### 9.4 Präzision

#### 9.4.1 Intra-Assay

Die Intra-Assay-Variation wurde ermittelt durch die Bestimmung von 20 Wiederholungsmessungen von drei Serumproben in einem Testansatz. Die Variation innerhalb des Assays ist nachfolgend dargestellt:

	Serum 1	Serum 2	Serum 3
<b>Mittelwert (ng/ml)</b>	2,01	6,02	27,63
<b>SD</b>	0,17	0,39	2,13
<b>CV (%)</b>	8,2	6,4	7,7
<b>n =</b>	20	20	20

#### 9.4.2 Inter-Assay

Die Inter-Assay-Variation wurde durch Doppelbestimmungen von drei Serumproben in 10 verschiedenen Tests bestimmt.

	Serum 1	Serum 2	Serum 3
<b>Mittelwert (ng/ml)</b>	1,74	5,86	14,61
<b>SD</b>	0,18	0,35	0,69
<b>CV (%)</b>	10,3	6,0	4,7
<b>n =</b>	10	10	10



### 9.5 Wiederfindung

Die Wiederfindungsrate wurde durch Zugabe zunehmender Mengen des Analyten zu drei verschiedenen Proben, die unterschiedliche Mengen an endogenem Analyten enthielten, bestimmt. Jede Probe (nativ und nach Zugabe von definierten Mengen) wurde mit dem Demeditec DHEA ELISA gemessen. Die prozentualen Wiederfindungen wurden durch Vergleich der erwarteten und gemessenen Ergebnisse der Proben ermittelt.

Serum	Zugefügtes DHEA (ng/ml)	Gemessener Wert (ng/ml)	Erwarteter Wert (ng/ml)	Wiederfindung (%)
1	-	0,74	-	-
	3,0	3,74	3,7	100
	6,0	6,97	6,7	103
	9,0	9,57	9,7	98
2	-	3,71	-	-
	3,0	7,09	6,7	106
	6,0	9,49	9,7	98
	9,0	12,52	12,7	99
3	-	3,73	-	-
	3,0	6,69	6,7	99
	6,0	10,30	9,7	106
	9,0	13,75	12,7	108

### 9.6 Linearität

Drei Serumproben wurden unverdünnt und mit dem Null-Kalibrator verdünnt untersucht. Die prozentuale Linearität wurde durch Vergleich der erwarteten und gemessenen Werte berechnet.

Serum	Verdünnung	Gemessener Wert (ng/ml)	Erwarteter Wert (ng/ml)	Wiederfindung (%)
1	-	17,36	-	-
	1 : 2	8,35	8,7	96
	1 : 4	4,11	4,3	95
	1 : 8	1,86	2,2	86
2	-	15,18	-	-
	1 : 2	7,58	7,6	100
	1 : 4	3,81	3,8	100
	1 : 8	1,69	1,9	89
3	-	11,04	-	-
	1 : 2	5,57	5,5	101
	1 : 4	2,89	2,8	105
	1 : 8	1,51	1,4	109

## 10 GRENZEN DES TESTS

Zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, wenn das Testverfahren mit vollständigem Verständnis der Anweisungen in der Gebrauchsanleitung und unter Befolgung der GLP (Good Laboratory Practice)-Richtlinien durchgeführt wird. Jede unsachgemäße Behandlung von Proben oder Modifikation dieses Tests können die Ergebnisse beeinflussen.

### 10.1 Interferenzen

- Hämolytische Proben sollten im DHEA ELISA nicht verwendet werden, um Interferenzen auszuschließen.
- Bilirubin (bis zu 0,2 mg/ml) und Lipide (bis zu 30 mg/ml) zeigen keinen Einfluss auf die Testergebnisse. Wir empfehlen jedoch, keine ikterischen oder lipämischen Proben zu verwenden, um Interferenzen auszuschließen.
- Proben, die Natriumazid enthalten, sollten nicht für den Assay verwendet werden.

- Das Ergebnis eines jeden immunologischen Testsystems kann durch heterophile Antikörper, Anti-Spezies-Antikörper oder Rheumafaktoren, die in menschlichen Proben vorhanden sind, beeinflusst werden. Das Auftreten von heterophilen Antikörpern bei Patienten, die regelmäßig mit Tieren oder tierischen Produkten in Berührung kommen, kann beispielsweise zu Störungen bei immunologischen Tests führen. Daher können Interferenzen mit diesem In-vitro-Immunoassay nicht ausgeschlossen werden. Bei Verdacht auf unplausible Ergebnisse sollten diese als nicht gültig betrachtet und durch weitere Untersuchungen überprüft werden.  
Zu diagnostischen Zwecken sollten die Ergebnisse immer nur in Verbindung mit dem klinischen Bild des Patienten und weiterer diagnostischer Tests betrachtet werden

## 10.2 Beeinflussung durch Medikamente

Medikationen wie Cremes, Öle, Pillen usw., die DHEA oder DHEA-S enthalten, haben einen entsprechenden Einfluss auf die Bestimmung des Analyten. Jede Medikation muss bei der Bewertung der Ergebnisse berücksichtigt werden.

## 11 RECHTLICHE GRUNDLAGEN

### 11.1 Zuverlässigkeit der Ergebnisse

Der Test muss exakt gemäß der Arbeitsanleitung 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 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 Demeditec Diagnostics GmbH 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. Ansprüche, die aufgrund einer Fehlinterpretation von Laborergebnissen durch den Kunden vorbehaltlich Punkt 11.2. geltend gemacht werden, sind ebenfalls ungültig.

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

1. Labrie F, Luu-The V, Belanger A, Lin SX, Simard J, Pelletier G, Labrie C.: Is dehydroepiandrosterone a hormone?, *J Endocrinol.* 2005 Nov;187(2):169-96.
2. Carlstrom K, Brody S, Lunell NO, Lagrelidius A, Mollerstrom G, Pousette A, Rannevik G, Stege R, von Schoultz B.; Dehydroepiandrosterone sulphate and dehydroepiandrosterone in serum: differences related to age and sex. *Maturitas.* 1988 Dec;10(4):297-306
3. Rainey WE & Nakamura Y.: Regulation of the Adrenal Androgen Biosynthesis *J Steroid Biochem Mol Biol* 2008 February; 108(3-5): 281-286
4. Thomas L. Labor und Diagnose – Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. 8. Auflage
5. Marks V.: False-Positive Immunoassay Results: A Multicenter Survey of Erroneous Immunoassay Results from Assays of 74 Analytes in 10 Donors from 66 Laboratories in Seven Countries *Clinical Chemistry* 2002, 48:11: 2008-2016
6. Tate & Ward (2004) Interferences in Immunoassays, *Clin. Biochem Rev* Vol 25, May 2004
7. Selby (1999): Interference in immunoassays; *Ann. Clin. Biochem* 1999, 36: 704-721

## 1 INTRODUCCIÓN

### 1.1 Intenciones de Uso

Inmunoensayo enzimático para la determinación diagnóstica cuantitativa de Dehidroepiandrosterona (DHEA) en suero y plasma (EDTA o citrato de plasma) humano.

El ensayo está diseñado para su uso en diagnóstico *in vitro* y ha de realizarse solamente por profesionales. Se recomienda el procesamiento manual. La utilización de sistemas automatizados de laboratorio será bajo la única responsabilidad del usuario. El kit está diseñado para un único uso.

### 1.2 Descripción del analito

La dehidroepiandrosterona (DHEA) es una hormona esteroide que se produce en las glándulas suprarrenales. Junto con su éster sulfato DHEA-S, es cuantitativamente el principal producto de secreción de las glándulas suprarrenales y sirve como precursor de los esteroides androgénicos y estrogénicos. DHEA y DHEA S están en equilibrio. La concentración de DHEA-S es aproximadamente 1000 veces mayor que la de DHEA (1, 4).

La glándula suprarrenal fetal produce grandes cantidades de DHEA y DHEA S durante el desarrollo fetal y disminuye significativamente en los primeros meses de vida. La secreción suprarrenal de DHEA y DHEA-S aumenta de nuevo durante la fase suprarrenal en niños de 6 a 8 años. Los niveles máximos de DHEA y DHEA-S circulante se alcanzan entre los 20 y los 30 años de edad. Después de eso, los niveles séricos de DHEA y DHEA-S disminuyen (1, 2, 3).

La medición de DHEA en suero es un marcador útil de la síntesis de andrógenos suprarrenales. Los niveles elevados se producen en diversas condiciones, que incluyen deficiencias de 11 $\beta$  hidroxilasa y 3-hidroxiesteroide deshidrogenasa y en algunos casos de hirsutismo femenino (4). Dado que las gónadas producen muy poca DHEA, la medición de los niveles de DHEA puede ayudar a localizar la fuente de andrógenos en condiciones virilizantes.

Los niveles anormales de DHEA se han descrito en la esquizofrenia y la obesidad. La administración terapéutica de DHEA se ha propuesto para varias condiciones, incluyendo la obesidad y la enfermedad cardiovascular.

## 2 PRINCIPIO

El Kit DHEA ELISA de DEMEDITEC es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida ligado a enzima (ELISA), basado en el principio de unión competitiva. Los pocillos de microtitulación se recubren con un anticuerpo anti-DHEA. Una cantidad desconocida de DHEA presentes en la muestra compite con un conjugado de peroxidasa de rábano picante-DHEA para la unirse al anticuerpo recubierto. Después de la incubación, el conjugado no unido se lava. La cantidad de conjugado de peroxidasa unida es inversamente proporcional a la concentración de DHEA en la muestra. Después de la adición de la solución de sustrato, la intensidad del color desarrollado es inversamente proporcional a la concentración de DHEA en la muestra. Se construye una curva estándar trazando los valores de DO frente a las concentraciones de los estándares, y las concentraciones de las muestras desconocidas se determinan utilizando esta curva estándar.

## 3 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Este kit es para uso de diagnóstico *in vitro* únicamente. Solo para uso profesional.
2. Antes de comenzar el ensayo, lea las instrucciones por completo y cuidadosamente. Utilice la versión validada del prospecto que se proporciona con el kit. Asegúrese de que todo se entienda.
3. Todo el material de origen humano utilizado en la preparación de los reactivos se ha probado y ha resultado negativo en cuanto a anticuerpos contra VIH 1 y 2, HbsAg y VHC. Sin embargo, ningún método de prueba puede ofrecer una garantía completa de la ausencia del VIH, VHB, VHC u otros agentes infecciosos. Por lo tanto, los reactivos deben manipularse de la misma manera que el material potencialmente infeccioso.
4. La microplaca contiene tiras separables. Los pocillos no utilizados deben almacenarse de 2 a 8°C en la bolsa de aluminio sellada y usarse bajo las condiciones provistas.
5. El pipeteo de la muestra y reactivos debe realizarse lo más rápido posible y en la misma secuencia para cada paso.
6. Utilice los depósitos solo para reactivos individuales. Esto se aplica especialmente para los depósitos de sustrato. El uso de un depósito para dispensar la solución de sustrato que se había usado previamente para la solución conjugada puede cambiar el color de la solución. No vuelva a verter los reactivos en los viales, ya que podrían contaminarse con los reactivos.
7. Mezcle bien el contenido de los pocillos de la microplaca para asegurar buenos resultados de la prueba. No reutilice los micropocillos.

8. No deje que los pocillos se sequen durante el ensayo; agregue los reactivos inmediatamente después de completar los pasos de lavado.
9. Deje que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18-25°C) antes de comenzar la prueba. La temperatura afectará las lecturas de absorbancia del ensayo.
10. Nunca pipetee con la boca, evite el contacto de la piel y membranas mucosas con los reactivos y las muestras.
11. No fume, coma, beba ni aplique cosméticos en las áreas donde se manipulan las muestras o los reactivos del kit.
12. Utilice guantes protectores desechables cuando manipule muestras y reactivos. La contaminación microbiana de reactivos o muestras puede dar resultados erróneos.
13. La manipulación debe realizarse de acuerdo con los procedimientos definidos por una directriz o reglamentación nacional apropiada de seguridad sobre peligros biológicos.
14. No utilice reactivos después de la fecha de caducidad que se muestra en las etiquetas del kit.
15. Todos los volúmenes indicados deben realizarse de acuerdo con el protocolo. Los resultados de prueba óptimos solo se obtienen cuando se utilizan pipetas calibradas y lectores de placas de microvaloración.
16. No mezcle ni utilice componentes de kits con diferentes números de lote. Se recomienda no intercambiar pocillos de placas diferentes ni siquiera del mismo lote. Los kits pueden haber sido enviados o almacenados en diferentes condiciones y las características de unión de las placas pueden resultar ligeramente diferentes.
17. Evite el contacto con la solución de paro. Puede causar irritación y quemaduras en la piel.
18. Los productos químicos y los reactivos preparados o usados deben tratarse como residuos peligrosos de acuerdo con las directrices o reglamentaciones nacionales de seguridad sobre peligros biológicos.
19. Para obtener información consulte las fichas de datos de seguridad. Las fichas de datos de seguridad de este producto están disponibles bajo pedido directamente con Demeditec Diagnostics GmbH o en la página de inicio de Demeditec ([www.demeditec.com](http://www.demeditec.com)).
20. Todos los incidentes graves que se produzcan en relación con productos comercializados en la UE de conformidad con el artículo 2, apartado 61, del Reglamento (UE) 2017/746 se notificarán al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro donde el usuario o paciente está establecido de conformidad con el artículo 82 del Reglamento (UE) 2017/746.
21. Si la información del producto, incluido el etiquetado, es incorrecta o inexacta, comuníquese con el fabricante o proveedor del kit.

## 4 REACTIVOS

### 4.1 Reactivos Provisos

1. **SORB MT** Placa de microtitulación, 12 x 8 tiras (desprendibles) con 96 pocillos; Pocillos recubiertos con anticuerpo anti-DHEA.
2. **CAL 0-5** Calibradores (calibrador 0-5), 6 viales, 0.6 ml en cada uno, listo para su uso. Matriz de suero enriquecida con una cantidad definida de DHEA. Concentraciones: 0 - 0,3 - 1 - 3 - 10 y 30 ng/ml
3. **CONTROL 1-2** Control 1 (bajo) / Control 2 (alto), 2 viales, 0.6 ml en cada uno, listo para su uso; Matriz de suero con cantidad definida de DHEA. Para valores y rangos de control consulte la hoja de datos de control de calidad.
4. **ENZ CONJ** Conjugado enzimático, 1 vial, 13 ml, listo para usar; peroxidasa de rábano picante ligados a DHEA en la matriz tamponada.
5. **SUB TMB** Solución de sustrato, 1 vial, 26 ml, listo para usar; contiene tetrametilbenzidina (TMB)
6. **STOP SOLN** Solución de parada, 1 frasco, 9,0 ml, listo para su uso; contiene solución de ácido clorhídrico 2 N. Evitar el contacto con la Solución de parada. Puede causar irritación y quemaduras en al piel.
7. **WASH SOLN 10x** Solución de lavado, 1 vial, 50 ml (10 veces más concentrado); consulte la sección "Preparación de los reactivos".

#### 4.2 Materiales requeridos pero no provistos

- Un lector de placas de punto final a 450 nm.
- Micropipetas calibradas volúmenes variables
- Mezclador de microplacas que opera más de 900 rpm
- Papel absorbente
- Agua destilada o desionizada
- Cronómetro
- Papel cuadriculado semi logarítmico o software de reducción de datos.

#### 4.3 Condiciones de almacenamiento

Cuando se almacena de 2 -8°C los reactivos sin abrir son estables hasta la fecha de caducidad. No utilizar los reactivos después de esta fecha. Los reactivos abiertos deben conservarse de 2°C a 8°C. Una vez abiertos los reactivos son estables durante 30 días si se almacenan correctamente.

Proteger del calor y de la luz solar directa.

Los pocillos se deben almacenar de 2-8°C. Una vez que la bolsa de aluminio se ha abierto, se debe tener cuidado para cerrarla herméticamente de nuevo.

#### 4.4 Preparación de reactivos

Deje que los reactivos y el número necesario de pocillos alcancen la temperatura ambiente (18-25°C) antes de comenzar la prueba.

#### Solución de lavado:

Diluir 50 ml del concentrado 10x de Solución de lavado con 450 ml de agua desionizada hasta un volumen final de 500 ml. La solución de lavado diluida es estable durante al menos 12 semanas a temperatura ambiente (de 18-25°C). Podrían formarse precipitados cuando se conserve a 2-8°C, que deberían disolverse de nuevo mediante agitación suave a temperatura ambiente (18-25°C). La solución de lavado solamente debe utilizarse cuando dichos precipitados se hayan disuelto por completo.

#### 4.5 Desecho de los kits

La eliminación del kit debe hacerse de acuerdo con las regulaciones nacionales. La información especial para este producto se presenta en la Hoja de Datos de Seguridad del Material.

#### 4.6 Daño de los kits

En caso de daño severo en el kit o componentes de la prueba, Demeditec Diagnostics GmbH tiene que ser informado por escrito a más tardar una semana después de recibir el kit. No se deben usar para una prueba de funcionamiento los componentes individuales severamente dañados. Estos tienen que ser almacenados hasta que se encuentre una solución definitiva. Después de esto, deben desecharse de acuerdo con las disposiciones oficiales.

### 5 TOMA Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Para la determinación de DHEA se puede utilizar **suero o plasma (EDTA, citrato de plasma)**.

Deben observarse las precauciones habituales para la venopunción. Es importante preservar la integridad química de una muestra de sangre desde el momento en que se recoge hasta que se analiza. No utilice muestras hemolíticas, ictericas o lipémicas. Además, se recomienda tener especial precaución al utilizar sistemas de recogida de suero en gel, ya que no se puede excluir una influencia en los resultados de la medición en caso de manipuleo inadecuada. No deben usarse muestras que contengan acida sódica.

El procedimiento requiere una muestra de 25 µl por pocillo. Las muestras deben analizarse inmediatamente o dividirse en alícuotas y almacenarse a ≤-20°C (hasta 12 meses). Evite los ciclos repetidos de congelación-descongelación. Las muestras que se espera que contengan concentraciones de DHEA superiores al calibrador más alto (30 ng/ml) deben diluirse con el calibrador cero antes del ensayo. El paso de dilución adicional debe tenerse en cuenta para el cálculo de los resultados.

## 6 PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

### 6.1 Observaciones Generales

- Se debe esperar que todos los reactivos y las muestras que alcancen la temperatura ambiente (18-25°C) antes de su uso. Todos los reactivos deben mezclarse sin formar espuma.
- Una vez que se ha iniciado la prueba, todos los pasos deben ser completados sin interrupción.
- Utilizar nuevas puntas de plástico dispuestas para cada estándar, control o muestra con el fin de evitar la contaminación cruzada.
- La densidad óptica es una función del tiempo de incubación y la temperatura. Antes de comenzar el ensayo, se recomienda que todos los reactivos estén listos, tapas removidas, todos los pocillos necesarios fijados en el soporte, etc. Esto asegurará que el tiempo transcurrido sea igual para cada paso de pipeteo sin interrupciones.
- Como regla general la reacción enzimática es linealmente proporcional al tiempo y la temperatura.
- Respetar los tiempos de incubación como se indica en estas instrucciones de uso.
- Los calibradores, controles y muestras deben probarse en determinaciones dobles mínimo.
- Cada corrida debe incluir una curva de calibración

### 6.2 Procedimiento del ensayo

1. Preparar un número suficiente de pocillos de la microplaca para acomodar los calibradores, controles y muestras en duplicados.
2. Dispensar 25 µl de cada calibrador, muestra y control con puntas nuevas en los pocillos adecuados por duplicado.
3. Dispensar 100 µl de Conjugado Enzimático en cada pocillo.
4. Incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente (18-25°C) en un agitador de placas (900 rpm).
5. Desechar el contenido de los pocillos y enjuagar los pocillos 4 veces con solución de lavado diluido (300 µl por pocillo). Retire la mayor cantidad de solución de lavado como sea posible al golpear ligeramente la microplaca en el papel absorbente.
6. Añadir 200 µl de solución de sustrato a cada pocillo.
7. Incubar sin agitación durante 30 minutos (18-25°C) en la oscuridad.
8. Detenga la reacción añadiendo 50 µl de solución de parada a cada pocillo.
9. Determinar la densidad óptica de cada pocillo a 450 nm. Se recomienda leer los pocillos dentro de los próximos 15 minutos.

### 6.3 Cálculo de los resultados

1. Calcular los valores medios de densidad óptica para cada conjunto de calibradores, controles y muestras.
2. Usar papel semi gráfico logarítmico, construir una curva estándar trazando la absorbancia media obtenida de cada estándar frente a su concentración con el valor de la absorbancia en el (Y) eje vertical y la concentración en el eje horizontal (X).
3. Utilizando el valor de absorbancia media para cada muestra, determine la concentración correspondiente de la curva de calibración.
4. Método automatizado: Los resultados en el prospecto se han calculado automáticamente utilizando un ajuste de curva de 4 PL (4 parámetros logísticos). La logística de parámetros 4 es el método de cálculo preferido. Otras funciones de reducción de datos pueden dar resultados ligeramente diferentes.
5. La concentración de las muestras se puede determinar directamente a partir de esta curva de calibración. Las muestras con concentraciones superiores a la del calibrador más alto tienen que ser diluidas con el calibrador cero y realizar el ensayo nuevamente. Para el cálculo de las concentraciones, este factor de dilución tiene que ser tomado en cuenta.

**Ejemplo de una curva de calibración típica.**

Los siguientes datos están diseñados sólo para ilustración y no deben ser utilizados para calcular los resultados de otra corrida.

Estándar	Densidad óptica (450nm)
Calibrador 0 (0 ng/ml)	3.003
Calibrador 1 (0,3 ng/ml)	2.501
Calibrador 2 (1 ng/ml)	1.912
Calibrador 3 (3 ng/ml)	1.220
Calibrador 4 (10 ng/ml)	0.647
Calibrador 5 (30 ng/ml)	0.341

**7 VALORES ESPERADOS**

Se recomienda encarecidamente que cada laboratorio determine sus propios valores normales y patológicos. Las muestras de adultos normales aparentemente sanos, recogidas por la mañana, fueron analizadas utilizando el ELISA de Demeditec y se observaron los siguientes valores:

Población	n	ng/ml			
		Rango	Mediana	2.5 Percentil	97.5 Percentil
Mujer <50 años	39	1.9 - 12.6	4.9	2.2	12.0
Mujer ≥50 años	20	1.1 - 5.4	2.4	1.1	4.7
Hombre <50 años	20	2.4 - 15.8	5.7	2.7	15.3
Hombre ≥50 años	22	0.3 - 5.6	2.0	0.7	4.8

Estos resultados por sí solos no deberían ser la única razón de las consecuencias terapéuticas o diagnóstica. Deben estar correlacionados con otras observaciones clínicas y pruebas de diagnóstico.

**8 CONTROL DE CALIDAD**

Las buenas prácticas de laboratorio requieren que los controles se procesen con cada curva de calibración. Un número estadísticamente significativo de los controles debe ser analizado para establecer los valores medios y rangos aceptables para asegurar un rendimiento adecuado.

Se recomienda el uso de muestras de control de acuerdo con las regulaciones estatales y federales. Se recomienda el uso de muestras de control para asegurar la validez de los resultados en el día a día. Utilice los controles en ambos niveles (normales y patológicos).

Los controles y los resultados correspondientes del control de calidad del laboratorio se indican en el certificado de control de calidad añadido al kit. Los valores y rangos indicados en la hoja de control de calidad se refieren siempre al lote del kit actual y deben ser utilizados para la comparación directa de los resultados.

También se recomienda hacer uso de los programas nacionales o internacionales de evaluación de calidad con el fin de asegurar la exactitud de los resultados.

Emplear métodos estadísticos apropiados para analizar los valores de control y las tendencias.

Si los resultados del ensayo no se ajustan a los rangos aceptables establecidos de materiales de control, los resultados del paciente deben considerarse inválidos. En este caso, consulte las siguientes áreas técnicas: Dispositivos de pipeteo y temporización, lector de placas de microtitulación, fechas de caducidad de los reactivos, condiciones de almacenamiento e incubación, métodos de aspiración y lavado. Después de comprobar los elementos mencionados anteriormente sin encontrar ningún error, póngase en contacto con su distribuidor o con Demeditec directamente.

**9 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO****9.1 Sensibilidad Analítica**

El nivel detectable analítico más bajo de DHEA que puede distinguirse desde el calibrador cero es de 0.082 ng/ml en el límite de confianza 2SD.

## 9.2 Especificidad (Reacción Cruzada)

Los siguientes materiales han sido evaluados para determinar la reactividad cruzada. El porcentaje indica la reacción cruzada a 50% de desplazamiento en comparación con DHEA.

<b>Esteroides</b>	<b>% Reacción Cruzada</b>
DHEA-S	0.06
Testosterona	< 0.02
Androstenediona	< 0.02
Progesterona	0.03
17 $\alpha$ -Hidroxiprogesterona	< 0.02
Pregnenolona	0.03
Prednisona	< 0.02
Prednisolona	< 0.02
Corticosterona	< 0.02
11-Desoxicorticosterona	0.2
Cortisol	< 0.02
11-Desoxicortisol	< 0.02
Cortisona	< 0.02
Dexametasona	< 0.02
17 $\beta$ -Estradiol	< 0.02
Estrona	< 0.02
Estriol	< 0.02
Danazol	< 0.02

## 9.3 Rango dinámico del ensayo

El rango del ensayo se encuentra entre 0.3 - 30 ng/ml.

## 9.4 Reproducibilidad

### 9.4.1 Intra-Ensayo

La variación intra-ensayo se determinó mediante 20 mediciones repetidas de tres muestras de suero dentro de una misma corrida. La variabilidad intra-ensayo se muestra a continuación:

	<b>Suero 1</b>	<b>Suero 2</b>	<b>Suero 3</b>
<b>Media (ng/ml)</b>	2.01	6.02	27.63
<b>SD</b>	0.17	0.39	2.13
<b>CV (%)</b>	8.2	6.4	7.7
<b>n =</b>	20	20	20

### 9.4.2 Inter-Ensayo

La variación inter-ensayo (entre corrida) fue determinada por mediciones duplicadas de tres muestras de suero en 11 pruebas diferentes.

	<b>Suero 1</b>	<b>Suero 2</b>	<b>Suero 3</b>
<b>Media (ng/ml)</b>	1.74	5.86	14.61
<b>SD</b>	0.18	0.35	0.69
<b>CV (%)</b>	10.3	6.0	4.7
<b>n =</b>	10	10	10



### 9.5 Recuperación

La recuperación se determinó agregando cantidades crecientes del analito a tres muestras diferentes que contenían diferentes cantidades de analito endógeno. Cada muestra (no enriquecida y enriquecida) se midió mediante el ELISA DHEA de DEMEDITEC. Los porcentajes de recuperación se determinaron comparando los resultados esperados y observados de las muestras.

Muestra	Matriz (ng/ml)	Obtenido (ng/ml)	Esperado (ng/ml)	Recuperado (%)
1	-	0.74	-	-
	3.00	3.74	3.74	100
	6.00	6.97	6.74	103
	9.00	9.57	9.74	98
2	-	3.71	-	-
	3.00	7.09	6.71	106
	6.00	9.49	9.71	98
	9.00	12.52	12.71	99
3	-	3.73	-	-
	3.00	6.69	6.73	99
	6.00	10.30	9.73	106
	9.00	13.75	12.73	108

### 9.6 Linealidad

Se analizaron tres muestras de suero sin diluir y se diluyeron con el calibrador cero. El porcentaje de linealidad se calculó comparando los valores medidos y esperados.

Suero	Dilución	Medido (ng/ml)	Esperado (ng/ml)	Linealidad (%)
1	-	17.36	-	-
	1 : 2	8.35	8.7	96
	1 : 4	4.11	4.3	95
	1 : 8	1.86	2.2	86
2	-	15.18	-	-
	1 : 2	7.58	7.6	100
	1 : 4	3.81	3.8	100
	1 : 8	1.69	1.9	89
3	-	11.04	-	-
	1 : 2	5.57	5.5	101
	1 : 4	2.89	2.8	105
	1 : 8	1.51	1.4	109

## 10 LIMITACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

Se obtendrán resultados fiables y reproducibles cuando el procedimiento de ensayo se realice con una comprensión completa del prospecto y con el cumplimiento de buenas prácticas de laboratorio. Cualquier manipulación inadecuada de las muestras o modificación de esta prueba podrían influir en los resultados.

### 10.1 Sustancias que interfieren

- No deben utilizarse muestras hemolizadas con el ensayo ELISA de DHEA, para excluir posibles interferencias.
- La bilirrubina (hasta 0,2 mg/ml) y los lípidos (hasta 30 mg/ml) no influyen en el resultado de este ensayo. Sin embargo, recomendamos no utilizar muestras ictericas o lipémicas para evitar posibles interferencias
- Las muestras que contengan azida sódica no deben ser utilizadas en este ensayo.
  - El resultado de cualquier test inmunológico puede resultar afectado por anticuerpos heterófilos, anticuerpos anti-especies o factores reumatoides presentes en las muestras humanas. Por

ejemplo, la presencia de anticuerpos heterófilos en pacientes regularmente expuestos a animales o a productos animales pueden interferir con los test inmunológicos. Por tanto, no pueden descartarse las interferencias con este inmunoensayo in vitro. Si se sospecha de la existencia de resultados inverosímiles, deberían considerarse inválidos y ser verificados por pruebas adicionales. Para fines diagnósticos, los resultados siempre deben ser considerados solamente en conjunción con el cuadro clínico del paciente y pruebas diagnósticas adicionales.

## 10.2 Interferencia con Drogas

Cualquier medicación (pomada, aceite, píldora, etc.) que contenga DHEA o DHEA-S influirá en la medida de esta molécula. Cualquier medicación debe ser tenida en cuenta cuando se evalúen los resultados

## 11 ASPECTOS LEGALES

### 11.1 Confiabilidad de los resultados

La prueba debe realizarse exactamente según las instrucciones del fabricante. Además, el usuario debe seguir estrictamente las reglas de BPL (Buenas prácticas de laboratorio) u otras normas y/o leyes nacionales aplicables. Esto es especialmente relevante para el uso de reactivos de control. Es importante incluir siempre dentro del procedimiento de prueba, un número suficiente de controles para validar la exactitud y precisión de la prueba.

Los resultados de las pruebas son válidos únicamente si todos los controles están dentro de los rangos especificados y si todos los demás parámetros del ensayo se encuentran también dentro de las especificaciones de ensayo dadas. En caso de cualquier duda o inquietud, por favor póngase en contacto con Demeditec.

### 11.2 Tratamiento

El tratamiento nunca debe basarse en los resultados de laboratorio por sí solo, incluso si todos los resultados de las pruebas están de acuerdo con los artículos según lo indicado en el punto 11.1. Cualquier resultado de laboratorio es sólo una parte del cuadro clínico total de un paciente. Sólo en los casos en que los resultados de laboratorio están en acuerdo con el cuadro clínico general del paciente debe ser derivado consecuencias terapéuticas. El resultado de la prueba en sí no debe ser el único factor determinante para derivar en tratamiento.

### 11.3 Responsabilidad


Cualquier modificación del kit de prueba y/o canje o intercambio de los componentes de diferentes lotes de un kit de prueba a otro podría afectar negativamente a los resultados previstos y la validez de la prueba general. Dichas modificaciones y/o intercambios invalidan cualquier reclamo de reemplazo. Reclamaciones presentadas debido a una mala interpretación del cliente de los resultados de laboratorio sujetos al punto 11.2. también son inválidos. Independientemente, en caso de cualquier reclamo, la responsabilidad del fabricante no debe exceder el valor del kit de prueba. Cualquier daño causado al kit de prueba durante el transporte no está sujeto a la responsabilidad del fabricante.

## 12 REFERENCIAS

1. Labrie F, Luu-The V, Belanger A, Lin SX, Simard J, Pelletier G, Labrie C.: Is dehydroepiandrosterone a hormone?, *J Endocrinol.* 2005 Nov;187(2):169-96.
2. Carlstrom K, Brody S, Lunell NO, Lagrelius A, Mollerstrom G, Pousette A, Rannevik G, Stege R, von Schoultz B.; Dehydroepiandrosterone sulphate and dehydroepiandrosterone in serum: differences related to age and sex; *Maturitas.* 1988 Dec;10(4):297-306
3. Rainey WE & Nakamura Y.: Regulation of the Adrenal Androgen Biosynthesis *J Steroid Biochem Mol Biol* 2008 February; 108(3-5): 281-286
4. Thomas L. Labor und Diagnose – Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. 8. Auflage
5. Marks V.: False-Positive Immunoassay Results: A Multicenter Survey of Erroneous Immunoassay Results from Assays of 74 Analytes in 10 Donors from 66 Laboratories in Seven Countries *Clinical Chemistry* 2002, 48:11: 2008-2016
6. Tate & Ward (2004) Interferences in Immunoassays, *Clin. Biochem Rev* Vol 25, May 2004
7. Selby (1999): Interference in immunoassays; *Ann. Clin. Biochem* 1999, 36: 704-721



## SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS

Symbol	English	Deutsch	Française	Espanol	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	utilisation Diagnostic in vitro	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 catalogo
	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
	Note warnings and precautions	Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen beachten	Avertissements et mesures de précaution font attention	Tiene en cuenta y advertencias y precauciones	Annoti avvisi e le precauzioni
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Température de conservation	Temperatura de conservacion	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>	Distributed by	Vertrieb durch	Distribution par	Distribución por	Distribuzione da parte di
	Version	Version	Version	Versión	Versione
	Single-use	Einmalverwendung	À usage unique	Uso único	Uso una volta