

Arbeitsanleitung/Manual

# GST- $\pi$

RIA

*Zur in vitro Bestimmung der Glutathion-S-Transferase  $\pi$  aus Serum, Plasma und Tumorgewebe*

*For the in vitro determination of Glutathion-S-Transferase  $\pi$  in Serum, Plasma and tumor tissue extract*

nur zu wissenschaftlichen Zwecken/for research use only

Gültig ab/valid from 07.02.2005

Artikelnummer/Catalogue No.: K 7961

Packungsgröße/Package size: 100 Tests/100 determinations

Lagerung/Storage:  $-20^{\circ}\text{C}$



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, D 64625 Bensheim  
Tel.: ++49 6251 39082/83  
Fax: ++ 49 6251 849430  
e.mail: [Immundiagnostik@t-online.de](mailto:Immundiagnostik@t-online.de)  
[www.Immundiagnostik.com](http://www.Immundiagnostik.com)

Inhaltsverzeichnis	Seite/Page
Table of contents	2
<b>1. VERWENDUNGSZWECK</b>	<b>3</b>
<b>2. EINLEITUNG</b>	<b>3</b>
<b>3. TESTPRINZIP</b>	<b>4</b>
<b>4. INHALT DER TESTPACKUNG</b>	<b>4</b>
<b>5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL</b>	<b>4</b>
<b>6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN</b>	<b>4</b>
<b>7. HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN</b>	<b>5</b>
<b>8. PROBENVORBEREITUNG</b>	<b>5</b>
<b>9. TESTDURCHFÜHRUNG</b>	<b>6</b>
HINWEISE	6
<b>10. ERGEBNISSE</b>	<b>7</b>
MUSTEREICHKURVE	7
<b>11. EINSCHRÄNKUNGEN</b>	<b>8</b>
<b>12. QUALITÄTSKONTROLLE</b>	<b>8</b>
ERWARTETE ERGEBNISSE	8
<b>13. TESTCHARAKTERISTIKA</b>	<b>8</b>
PRÄZISION UND REPRODUZIERBARKEIT	8
WIEDERFINDUNG	9
LINEARITÄT	9
NACHWEISGRENZE	9
<b>14. LITERATUR</b>	<b>9</b>
<b>15. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST</b>	<b>10</b>

---

Table of contents	Page
<b>1. INTENDED USE</b>	<b>12</b>
<b>2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST</b>	<b>12</b>
<b>3. PRINCIPLE OF THE TEST</b>	<b>12</b>
<b>4. MATERIAL SUPPLIED</b>	<b>13</b>
<b>5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED</b>	<b>13</b>
<b>6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS</b>	<b>13</b>
<b>7. PRECAUTIONS</b>	<b>14</b>
<b>8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION</b>	<b>14</b>
PLASMA ODER SERUM	14
TISSUE MATERIAL :	14
<b>9. ASSAY PROCEDURE</b>	<b>15</b>
PROCEDURAL NOTES	15
TEST PROCEDURE	15
<b>10. RESULTS</b>	<b>16</b>
TYPICAL CALIBRATION CURVE	16
<b>11. LIMITATIONS</b>	<b>17</b>
<b>12. QUALITY CONTROL</b>	<b>17</b>
EXPECTED VALUES	17
<b>13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS</b>	<b>17</b>
PRECISION AND REPRODUCIBILITY	17
RECOVERY	18
LINEARITY	18
SENSITIVITY	18
<b>14. REFERENCES</b>	<b>18</b>
<b>15. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE</b>	<b>19</b>

## 1. VERWENDUNGSZWECK

Der hier beschriebene Assay ist für die Bestimmung von **GST-pi** aus Serum, Plasma und Tumorgewebe. Nur zur in vitro Diagnostik.

## 2. EINLEITUNG

Glutathion-S-Transferasen (GST) sind eine Gruppe weit verbreiteter Enzyme in eukaryotischen Zellen. Man teilt heute in fünf Familien ein: Alpha, Mu, Pi, Teta und mikrosomale. Die Klassen unterscheiden sich in ihrem physikochemischen, immunologischen, enzymatischen und strukturellen Eigenschaften und sind in unterschiedlichen Genorten lokalisiert. Ihre Funktion im Zellmetabolismus ist die Kopplung elektrophiler Agenzien, zu denen auch die meisten Karzinogene gehören, mit Glutathion (GSH). Die GST  $\pi$  sind die Hauptklasse in den Erythrozyten und einigen Leukozyten, kommen darüber hinaus in allen Organen vor. Die GST  $\pi$  sind Dimere mit einem Molekulargewicht von 46000 Da und einem Isoelektrischen Punkt von zirka 4,7.

In allen neoplastischen Geweben (fötal, maligne) konnten erhöhte Werte der GST detektiert werden. Besonders deutlich ist diese Erhöhung (2-3-fach) im Serum von Patienten mit post-operativen Rezidiven zu messen. Erhöhte Serumwerte findet man auch bei hämatologischen Erkrankungen (Hämolytische Anämie, sub-Formen der Leukämie). Außerdem können GST  $\pi$  Konzentrationen den multi-drug-resistance-Status eines Tumors anzeigen und die Relevanz der Chemo-Therapie klären.

Bisher wurden die GST mit biochemischen Aktivitätsnachweisen aus dem Gewebe quantifiziert, der vorliegende Test ist ein RIA-Nachweis aus dem Serum oder Plasma.

### 3. TESTPRINZIP

In dem vorliegenden Radioimmunoassay zur Bestimmung von humaner Glutathion-S-Transferase (GST), Typ  $\pi$ , werden polyklonale Kaninchenantikörper gegen humane GST  $\pi$  eingesetzt. Der Tracer ist  $^{125}\text{I}$ -markierte hGST  $\pi$ . Die Abtrennung der gebundenen Antigene von freien erfolgt mit Hilfe einer spezifischen Doppelantikörpertrennung.

### 4. INHALT DER TESTPACKUNG

Artikel Nr.	Kit Komponenten	Menge
K 7961T	$^{125}\text{I}$ GST-pi < 110 kBq (rote gefärbt)	1 x 10 ml
K 7961WP	RIA Waschpuffer (gebrauchsfertig)	1 x 100 ml
K 7961A1	1. Antikörper (Kaninchen anti h GST-pi)	1 x 10 ml
K 7961A2	2. Antikörper (Esel anti Kaninchen IgG)	1 x 25 ml
K 8021ST	Standard, gebrauchsfertig (NSB, 0, 0.74, 2.2, 6.6, 20, 60, 180, 540 ng/ml)	9 x 250 $\mu\text{l}$

### 5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Gamma-Counter
- RIA-Röhrchen, 75 x 12 mm, Polystyrol
- Vortexer
- Div. Pipetten

### 6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

Alle Reagenzien sind gebrauchsfertig und bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar (siehe Etikett)

## 7. HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

- Komponenten können auf Humanserum aufgebaut sein. Sie sind auf HIV und Hepatitis B getestet und für negativ befundet worden. Jedoch sollten die Testkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.
- Der Tracer enthält  $^{125}\text{I}$  und ist somit als radioaktiv einzustufen. Es ist darauf zu achten, daß nur in den dafür genehmigten Räumen mit den entsprechenden Sicherheitsvorkehrungen gearbeitet wird. Es sollte mit Schutzhandschuhen und Schutzbrille gearbeitet werden. Leichte Kontaminierungen mit dem Tracer können mit Seifenlauge abgewaschen werden, starke Kontaminierungen sollten von einem Arzt behandelt werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.

## 8. PROBENVORBEREITUNG

### Plasma oder Serum:

Venöses Blut in Plasma- oder Serumröhrchen abnehmen (kein Heparin-Röhrchen verwenden), mischen und nach 15 - 30 Minuten 10 Minuten bei 1800 x g zentrifugieren. Das entstehende Serum bzw. Plasma bis zur Messung bei - 20°C tiefgefroren lagern.

### Gewebe

Gewebe nach Entnahme lysieren (Dismembrator 1500 rpm, 5 min.) und in Phosphatpuffer aufnehmen. 1 Stunde bei 100000g zentrifugieren und Überstand (cytosolische Fraktion) bei -20°C lagern. Zur Messung muß das Gewebevolumentäquivalent ca. 50-500 fach in Phosphatpuffer verdünnt werden.

Proben mit einem GST Gehalt > 540 ng/ml sind mit Phosphatpuffer zu verdünnen.

## 9. TESTDURCHFÜHRUNG

### *Hinweise*

- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Qualitätskontrollen sollten immer mitgemessen werden.
- Inkubationszeit, Temperatur und Pipettiervolumen sind vom Hersteller festgelegt. Jegliche Abweichung der Testvorschrift, die nicht mit dem Hersteller koordiniert wurde, kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Immundiagnostik übernimmt keine Haftung.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.

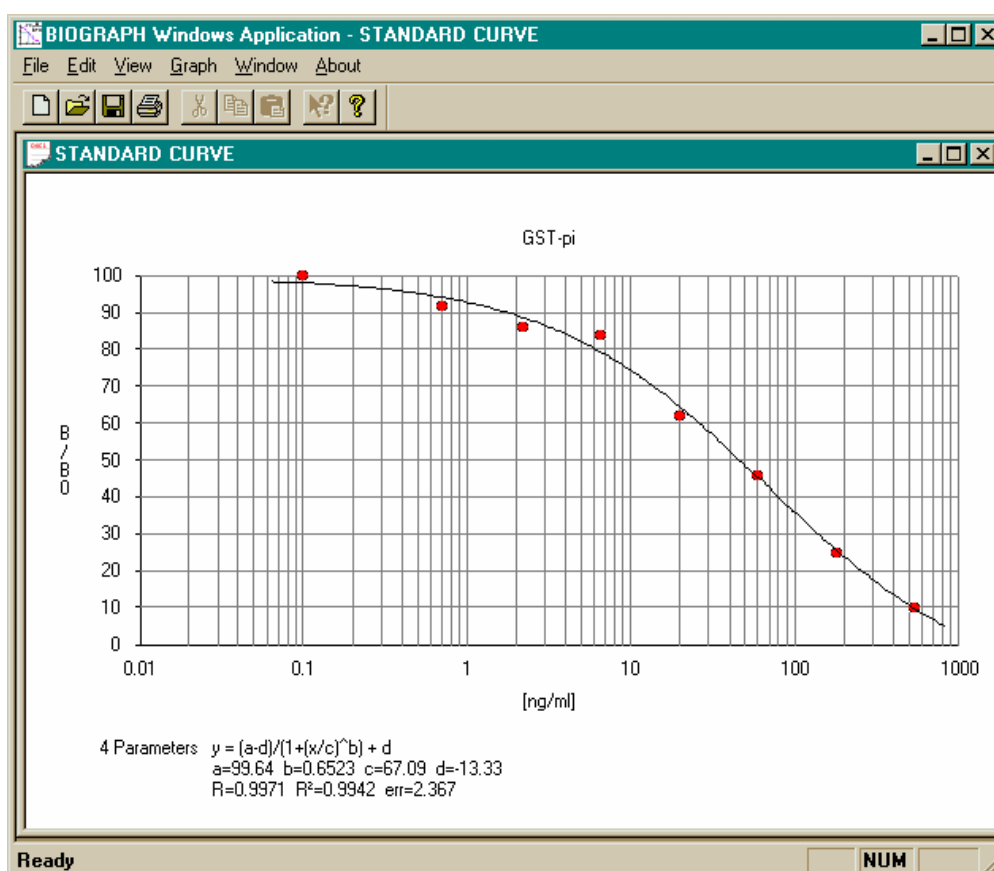
Die Bestimmungen sind in RIA-Teströhrchen, 75 x 12 mm, Polystyrol, in Doppelwerten durchzuführen.

1. **50 µl** NSB, Standards, Patientenproben (Plasma oder Serum unverdünnt oder bzw. Gewebe verdünnt) in Teströhrchen geben,
2. **100 µl** Tracer, rot eingefärbt ( $^{125}\text{I}$ -GST) zugeben,
3. **100 µl** 1.Antikörper (**nicht in NSB**) hinzufügen,
4. Röhrchen kurz auf Horizontalmischer mischen.
5. **16 Std.** bei Raumtemperatur inkubieren
6. **250 µl** 2.Antikörper-Präzipitationspuffer (Lösung vorher gut mischen) hinzufügen,
7. **1 Std.** bei Raumtemperatur inkubieren
8. **10 min.** bei 1800 x g zentrifugieren, Überstände dekantieren,
9. **1,0 ml** Waschpuffer zugeben
10. **10 min.** bei 1800 x g zentrifugieren, Überstände dekantieren,
11. Sedimente **1 Minute** im Gamma-Counter zählen.

## 10. ERGEBNISSE

Zur Auswertung des Testes empfehlen wir die 4-Parameter-Funktion. Alternativ kann auch eine Punkt-zu-Punkt-Auswertung oder eine gewichtete Spline-Funktion gewählt werden. Vor jeder automatischen Auswertung sollte stets eine Kontrolle der Doppelwerte auf Plausibilität („Ausreißerkontrolle“) durchgeführt werden; falls dies nicht durch das verwendete Programm erfolgt, sollte diese der Operator durchführen.

### *Mustereichkurve*



## 11. EINSCHRÄNKUNGEN

Proben mit einer GST-pi Konzentration größer dem größten Standard sollten mit verdünnt werden und nochmals im Assay eingesetzt werden.

## 12. QUALITÄTSKONTROLLE

Wir empfehlen die Kontrollen oder Plasma Pools, bei jedem Testansatz mitzumessen. Die Ergebnisse der Kontrollen müssen auf Richtigkeit überprüft werden. Liegen eine oder mehrere Kontrollen außerhalb des angegebenen Bereiches kann Immundiagnostik die Richtigkeit der Proben nicht gewährleisten.

### *Erwartete Ergebnisse*

#### Plasma oder Serum

Serum und Plasma von Normalpersonen: 5-30 ng/ml.

## 13. TESTCHARAKTERISTIKA

### *Präzision und Reproduzierbarkeit*

#### Intra-Assay-Variation

Die Reproduzierbarkeit von zwei Proben innerhalb einer Meßserie wurde geprüft. Eine Normalprobe und eine pathologische Probe wurden 12 mal in einem GST-pi RIA von einer Person angesetzt.

Intra-Assay VK n= 12

Probe	GST-pi Mittelwert [ng/ml]	Intra-Assay Vk [%]
1	125	10

Inter-Assay-Variation

Es wird die Reproduzierbarkeit von zwei Proben an unterschiedlichen Tagen geprüft. Eine Normalprobe und eine pathologische Probe wurden an verschiedenen Tagen und verschiedenen Personen im GST-pi RIA gemessen.

Inter-Assay VK n= 12

Probe	GST-pi Mittelwert [ng/ml]	Inter-Assay Vk [%]
1	125	12

*Wiederfindung*

Die Wiederfindungsrate wurde mittels einer Serumprobe (30 ng/ml), der verschiedene Konzentrationen an GST $\pi$  zugesetzt wurden, ermittelt. Sie lag bei 90-105%.

*Linearität*

Der lineare Bereich des vorliegenden RIAs erstreckt sich von 1 - 250 ng/ml.

*Nachweisgrenze*

Die Nachweisgrenze wurde festgesetzt als  $B_0 + 2SD$ . Sie beträgt 1 ng/ml.

**14. LITERATUR**

1. Schäfer et al. A new Glutathione-S-Transferase assay for serological detection of gastrointestinal tumors. *Klin.Lab.* 11/1993

## 15. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Falls für die Herstellung der Testkomponenten Humanseren verwendet wurde, sind diese auf HIV und Hepatitis B getestet und für negativ befundet worden. Jedoch sollten die Testkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.
- Die Testkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen Natriumazid oder Thimerosal. Natriumazid/Thimerosal sind giftig. Substrate für enzymatische Farbreaktionen sind als giftig und karzinogen beschrieben. Jeder Kontakt mit der Haut oder der Schleimhaut ist zu vermeiden.
- Alle im Test enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zu wissenschaftlichen Zwecken oder, wenn vermerkt, zur in vitro Diagnostik eingesetzt werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf der Verpackung angegebenen Datums nicht mehr verwendet werden. Einzelkomponenten verschiedener Chargen dürfen nicht gemischt oder ausgetauscht werden.
- Für die Qualitätskontrolle sind die, für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.
- Die charakteristischen Testdaten wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettiervolumina der verschiedenen Komponenten wurden firmenintern festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller- der Immundiagnostik zurück zu senden.

# GST- $\pi$

RIA

*For the in vitro determination of Glutathion-S-Transferase  $\pi$  in  
Serum, Plasma and tumor tissue extract*

for research use only

Gültig ab/valid from 07.02.2005

Artikelnummer/Catalogue No.: K 7961

Packungsgröße/Package size: 100 Tests/100 determinations

Lagerung/Storage: -20°C

CE

## 1. INTENDED USE

The *Immundiagnostik* Assay is intended for the quantitative determination of GST- $\pi$  in serum and tumor tissue extract. For in vitro diagnostic use only.

## 2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Glutathion-S-transferases (GST) are a group of enzymes, which are involved in detoxification processes. The GSTs are divided in 5 subgroups: Alpha, Mu, Pi, Teta and microsomal. The classes differ in their physicochemical, immunological, enzymatic and structural properties. Their function in cellular metabolism is the coupling of electrophile compounds, for example most of the carcinogenes, to Glutathion (GSH). The GST Pi is the main group in erythrocytes and in some leucocytes, moreover they are found in most tissues except liver. The GST Pi are dimeric molecules with a molecular weight of 46000 Da and an isoelectric point of about 4,7. High GST Pi levels were found in all neoplastic tissue (fetal, maligne) and in serum of patients with post-operative recidives. Increased serum levels were also found in haematological diseases (haemolytic anaemia and sub-groups of leukemia). Moreover GST Pi concentrations give informations about the multi-drug-resistance-status of tumours.

## 3. PRINCIPLE OF THE TEST

This radioimmunoassay is capable for the quantification of GST- $\pi$ . GST- $\pi$  in the standards and the samples competes with <sup>125</sup>I-labelled GST- $\pi$  (tracer) for the binding sites of an anti-GST- $\pi$  antibody (1. Antibody). Bound antigen is separated from unbound by double antibody precipitation. The quantity of bound tracer is indirectly proportional to the GST- $\pi$  content.

#### 4. MATERIAL SUPPLIED

Catalogue No	Kit Components	Quantity
K 7961T	$^{125}\text{I}$ GST-pi < 110 kBq (red color)	1 x 10 ml
K 7961WP	RIA wash buffer, ready-to-use	1 x 100 ml
K 7961A1	1 <sup>st</sup> Antibody (rabbit anti h GST-pi)	1 x 10 ml
K 7961A2	2 <sup>nd</sup> Antibody (donkey anti rabbit IgG)	1 x 25 ml
K 8021ST	Calibrators, ready-to-use (NSB, 0, 0.74, 2.2, 6.6, 20, 60, 180, 540 ng/ml)	9 x 250 $\mu\text{l}$

#### 5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Precision Pipettors to deliver 5 and 100  $\mu\text{l}$
- Repeating dispenser for 100 and 250  $\mu\text{l}$
- Vortex mixer
- Gamma Counter

#### 6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS

All test reagents are ready to use solutions and could be stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until the expiry date printed on the labels of the test components.

## 7. PRECAUTIONS

- The calibrators and controls could contain human source material which was tested and found to be non-reactive to HBsAg, anti-HIV-1/2, and anti-HCV. Since no method can offer complete assurance that hepatitis B virus, HIV-1/2, HVC or other infectious agents are absent, these reagents should be handled as if potentially infectious.
- The tracer contains  $^{125}\text{I}$  and is a radioactive solution. Although diluted, it still must be handled with care. It should be handled with gloves, eye protection, and appropriate protective clothing. Any spill should be wiped up immediately with copious quantities of water. Do not breath vapor and avoid inhalation.
- Reagents should not be used beyond the expiration date shown on kit label.

## 8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

### *Plasma oder Serum*

Blood is collected in plasma- or serum tubes (don't use heparin-tubes and care of hemolysis !), shake carefully and after 15 - 30 minutes centrifuge at 1800 x g for 10 min. The collected serum or plasma should be stored rapidly at -20 C till use. **Do not use hemolysed blood.**

### *Tissue material :*

The tissue has to be homogenised (f.e. mechanically with a dismembrator) and then resuspended in phosphate buffer. Then follows an ultra centrifugation step (1h at 100 000 x g). The supernatant of these centrifugation step is the cytosolic fraction. Protein in the supernatant should be determined according to Lowry et al. or with BCA Protein Assay [Pierce]. Protein should be diluted to about 10 µg/ml and 2 x 100 µl / sample should be used for the RIA.

Alternatively the tissue material can be resuspended after the homogenisation in phosphatebuffer with 1% Triton X100. After mixing at least 2 hours this tissue lysate has to be centrifuged at 10 000 x g for 10 minutes. After determination of proteincontent the supernatant can be used for the RIA.

## 9. ASSAY PROCEDURE

### *Procedural notes*

- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay.
- The quality control guidelines should be observed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the different components are defined by the producer. Any variations of the test procedure, that are not coordinated with the producer, may influence the test results. Immundiagnostik can therefore not be held reliable for any damage resulting from this.
- Carry out the assay with the actual manual delivered with the kit.

### *Test procedure*

The tests should be carried out in polypropylene RIA tubes in duplicates.

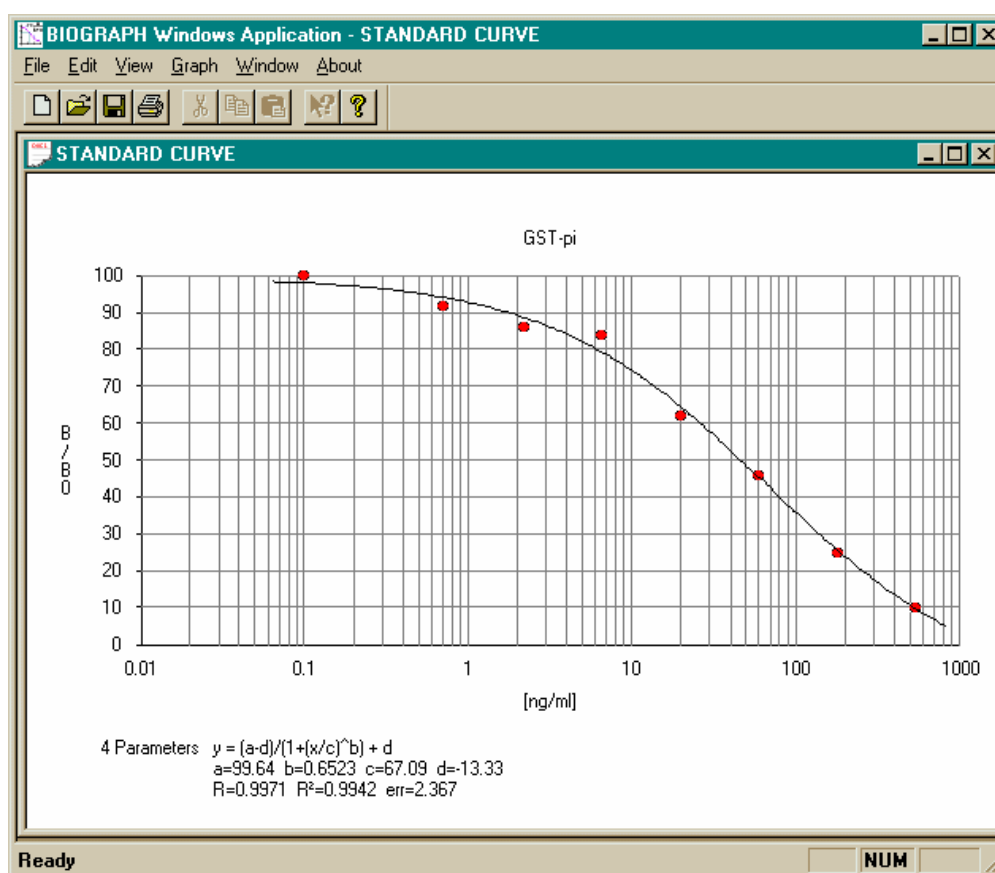
1. Pipette **50 µl** of NSB, standards and samples in RIA tubes.
2. Add **100 µl** tracer (125-I-GSTpi, red coloured)
3. Add **100 µl** 1. Antibody to each tube (not to NSB) and incubate **over night** (16 – 20 h) at room temperature
4. Add **250 µl** 2. antibody precipitation solution (mix vigorously prior to use)
5. Incubate for **60 min** at **room temperature**.
6. Centrifuge for **10 min.** with **1800 x g**, decant the supernatants.
7. Add **1 ml** washing solution to each sediment and mix vigorously.
8. Centrifugate for **10 min.** with **1800 x g**, decant the supernatants.
9. Count the sediment in the gamma-counter for one minute.

## 10. RESULTS

A calibration curve is constructed from the standards. Commercially available software can be used as well as graph paper. Results of the samples are read from this calibration curve.

THE CALIBRATION CURVE IS NOT LINEAR, therefore a spline-algorithm is recommended.

### *Typical calibration curve*



## 11. LIMITATIONS

Samples with GST-pi levels greater than the highest calibrator, should be diluted and re-assayed.

## 12. QUALITY CONTROL

Immundiagnostik recommends commercial control samples for internal quality control.

Control samples or serum pools should be analyzed with each run of calibrators and patient samples. Results, generated from the analysis of control samples, should be evaluated for acceptability using appropriate statistical methods. In assays in which one or more of the quality control sample values lie outside the acceptable limits, the results for the patient sample may not be valid.

### *Expected values*

Normal range (Plasma or Serum):

5-30 ng/ml.

## 13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### *Precision and reproducibility*

The precision (intra-assay variation) of the Immundiagnostik GST-pi RIA test was calculated from 10 replicate determinations of the sample.

Intra-Assay CV n= 10

Sample	GST-pi Mean value [ng/ml]	Intra-Assay CV [%]
1	125	10

The total precision (inter-assay variation) of the Immundiagnostik GST-pi RIA test was calculated from data one sample obtained in 10 different assays by three technicians on two different lots of reagents over a period of 3 months.

Inter-Assay CV n= 10

Sample	GST-pi Mean value [ng/ml]	Inter-Assay CV [%]
1	125	12

### *Recovery*

One sample were spiked with different GST- $\pi$  concentrations and measured in the kit. The recovery was between 90-105 per cent.

### *Linearity*

The linearity of the RIA is 1 - 250 ng/ml.

### *Sensitivity*

The sensitivity or minimum detection limit of this assay is defined as the smallest single value that can be distinguished from zero at the 3 x standard variation as confidence limit ( $B_0 + 3 SD$ ) and was calculated with 1 ng/ml.

## 14. REFERENCES

1. Schäfer et al. A new Glutathione-S-Transferase assay for serological detection of gastrointestinal tumors. *Klin.Lab.* 11/1993

## 15. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- This assay was produced and put on the market according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- The test components which are made of human serum are tested for Australia antigen and HIV and found to be negative. However, since no test method can offer complete assurance that infectious agents are absent, these reagents should be handled as recommended for any potentially infectious human serum or blood specimen. The normal precautions for laboratory working should be observed.
- Reagents of the test package contain sodium azide as a bactericide. Contact with skin or mucous membranes has to be avoided.
- All reagents in the test package are to be used for in-vitro diagnostics only.
- The reagents should not be used after the date of expiry stated on the label.
- Single components with different lot numbers should not be mixed or exchanged.
- The guidelines for medical laboratories should be observed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the different components are defined by the producer. Any variations of the test procedure, that are not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik can therefore not be held reliable for any damage resulting from this.