



Free TESTO-RIA-CT

KIPI19000



Free TESTOSTERONE-RIA-CT

Radioimmunoassay for the Quantitative Determination of Free Testosterone
in Human Serum
KIPI19000
IN VITRO DIAGNOSTIC USE

en

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, Belgium - Tel: +32 67 88 99 99 - Fax : +32 67 88 99 96

1. INTENDED USE : For IN VITRO determination of Free Testosterone (FT) levels in hirsutism and hypogonadism.

Free testosterone diffuses through cell membranes and binds to specific receptor proteins (androgen receptors); the Testosterone-receptor complexes act as transcriptional modulators on cis-regulatory regions of many genes.

Excess of Androgens in women causes hirsutism and signs of virilization; Testosterone level in serum has to be determined before and after ovarian and adrenal stimulation and suppression to identify the source of excessive hormone production.

Primary and secondary hypogonadism in men result in clinical hypoandrogenization, correlated with the degree of gonadal failure in Testosterone production. The determination of serum Testosterone together with that of LH allows the correct assessment of those conditions.

The diagnosis of true anorchia also requires to discriminate this condition from cryptorchidism. Under prolonged hCG stimulation, Testosterone levels remain very low in true anorchia while cryptorchid testes can respond to stimulation.

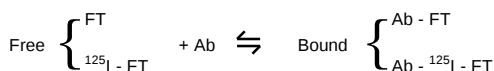
Androgen resistance syndromes, due to X linked androgen receptor gene deficiencies, are made of various degrees of sexual ambiguity. Whatever the severity of the phenotypical abnormalities, serum Testosterone is systematically high in regards to elevated LH serum levels in these conditions.

Testosterone assays include total testosterone (direct, extraction, coated tubes) and free testosterone determinations.

Total Testosterone in plasma includes free Testosterone and Testosterone bound to SHBG, albumin, CBG. The mean percentage of each in normal men is 2.7, 32, 65 and <0.1 respectively.

Solvents break the protein binding in extraction assays whereas blocking agents release Testosterone from proteins in direct assays. The advantage of a free testosterone assay is that free testosterone concentrations are in equilibrium with testosterone bound to receptors in the organs.

2. PRINCIPLE OF THE METHOD : The Free Testosterone (FT) CT RIA obeys the law of mass action according to the following equation :



Since the concentrations of ${}^{125}\text{I} - \text{FT}$ and coated antibodies are constant, the advancing state of the equation depends on the concentration of FT. The amount of ${}^{125}\text{I} - \text{FT}$ bound to the coated tube is inversely proportional to the concentration of FT in the sample.

Following the incubation, the tube is aspirated to remove excess unbound labelled T.

Patient sample concentrations are read from a calibration curve.

3. MATERIAL PROVIDED AND STORAGE :

Stored at 2 - 8°C, the material can be used up to the expiration date printed on each label.

- 3.1.  2 x 48 Polystyrene tubes (12 x 75 mm) coated with anti-Testosterone polyclonal antibodies.
Systematically allow the coated tubes to reach room temperature before use.
- 3.2.

Ag	${}^{125}\text{I}$
----	--------------------

 yellow, 42 ml
1 bottle of ${}^{125}\text{I}$ -labelled FREE TESTOSTERONE analogue in protein based buffer containing < 0.1 % NaN_3 as preservative.
Each bottle contains less than 185 Kbp (5 μCi)
- 3.3.

CAL	N
-----	---

 0.5 ml in each vial - N=0 to 6
7 vials of FREE TESTOSTERONE in human serum containing preservative (NaN_3 < 0.1 %).
The concentrations are printed on the labels.

- 3.4.

CONTROL	N
---------	---

 0.5 ml in each vial - N=1 or 2
2 vials of human serum containing preservative (NaN_3 < 0.1 %). The control sera are to be assayed along with the patient samples. The ranges for the control sera are printed on the vial labels.

- 3.5.

WASH	SOLN	CONC
------	------	------

 70 x concentrated, 10 ml
1 bottle concentrated buffered solution containing sodium azide (NaN_3 < 0.1 %). Pour the solution in 700 ml of distilled water.

4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED :

- bench surfaces, protected by absorbent paper to reduce the effects of radioactive spillage.
- waste disposal containers, appropriately labelled and suitable for solid or liquid radioactive materials.
- manual or automated precision micropipettes for dispensing samples or reagents without cross-contamination.
- absorbent paper.
- vacuum pump, connected through a trap, for aspiration.
- water bath.
- a gamma scintillation counter
- appropriate graph paper for plotting the results.

5. METHODOLOGY

5.1. Collection and handling of blood samples :

The blood sample can be collected into a dry tube.

After separation from the red blood cells, serum samples can be assayed immediately, within 24 hours if stored at 2 - 8°C, or later, after a period of up to several months if stored at -20°C. Repeatedly freezing and thawing must be avoided.

5.2. Assay procedure :

Reagents stored at 2°- 8° C. must be brought at room temperature prior to use. Do not mix reagents of different lots. Label the tubes for T (« Total Counts » do not use coated tubes) calibrators, samples and controls. Calibrators and controls should be mixed before use by inverting or swirling rather than vortexing.

Perform the assay in duplicate. Calibrators, controls and samples must be assayed at the same time.

1. Calibrator curve :

Pipette 50 μl of each calibrator into the corresponding tubes.

2. Samples and control sera :

Pipette 50 μl of each sample or control serum into the corresponding tubes.

3. Add 400 μl of ${}^{125}\text{I}$ - TESTOSTERONE analogue tracer to each tube. Vortex and cover.

4. Incubate 2 hours at $37 \pm 2^\circ\text{C}$.

5. Carefully aspirate or decant (before to decant, add 2 ml of washing solution to each tube) the solution of all tubes. (Except total counts tubes).

6. Add 2 ml of washing solution to each tube. Aspirate or decant carefully.

7. Count the radioactivity fixed in each tube for at least 60 seconds

5.3. Data processing :

Determine the mean count rate for each set of duplicate tubes.

Calculate the ratio B/B0 as follows :

$$B/B0 \% = \left[\frac{\text{Cal or Smp cpm}}{B0 (\text{Cal } 0) \text{ cpm}} \right] \times 100$$

Draw the calibrator curve on semilogarithmic paper by plotting the ratio B/B0 % (linear scale) obtained for each calibrator versus its respective concentration expressed in pg/ml (logarithmic scale). FREE TESTOSTERONE concentrations in samples can be read directly from the calibrator curve.

If a computer is used to calculate the results, the data can be fitted to the appropriate equation : smoothed spline.

5.4. Example of a typical assay :

	Contents (pg/ml)	cpm 1st duplicate	cpm 2nd duplicate	Mean count rate	B/Bo (%)	Free Testosterone (pg/ml)
Total counts	-	52039	51647	51843	-	-
Cal 0	0	25839	25961	25900	100	-
Cal 1	0.3	21086	21170	21128	81.6	-
Cal 2	1	46509	16203	16356	63.2	-
Cal 3	3	12437	12428	12433	48	-
Cal 4	10	8317	7916	8117	31.3	-
Cal 5	30	5017	4711	4864	18.8	-
Cal 6	90	2611	2528	2570	9.9	-
C 1 low	1.5 – 2.9	13461	13557	13508	52.2	2.3
C 2 high	15 – 29	5736	5002	5369	20.8	21
Sample 1		17478	16742	16975	65.5	0.86
Sample 2		7538	7423	7481	28.9	11.5
Sample 3		4681	4645	4663	24.3	33

Example of a typical assay, do not use for calculations

6. PERFORMANCE CHARACTERISTICS :

6.1. Specificity

Steroid	% Cross-reactivity
Testosterone	100
5 α DHT	0.006
androstenedione	0.02
β estradiol	0.0003
DHEA-S	0.000001
Androsterone, Corticosterone, 11 DOC, estriol, estrone, progesterone, DHEA	N.D.

6.2. Minimum detectable concentration of FREE TESTOSTERONE :

The minimum detectable concentration has been assayed at 0.13 pg/ml and corresponds to the concentration given by two standard deviations below the mean cpm of 20 replicate determinations of the zero calibrator.

6.3. Reproducibility :

	Mean value (pg/ml)	Within assay variation (% CV) 10 replicates	Between assay variation (% CV) 7 Separate assays in duplicate
Pool 1	0.73	11.4	18.07
Pool 2	10.89	5.7	6.72
Pool 3	33.94	9.3	8.46

7. LIMITATION OF THE PROCEDURE

- The results obtained from this or any other diagnostic kit should be used and interpreted only in the context of an overall clinical picture.
- Do not use lipemic, haemolyzed, icteric or turbid specimens.
- Do not use plasma samples

8. EXPECTED VALUES

It is recommended that each laboratory establishes its own reference values.

Revision date: 2010-03-10

Age group	MALES (pg/ml)		FEMALES (pg/ml)	
	Median	Range*	Median	Range*
<20	-	0,2 – 42,5	0,95	ND – 3,09
20 - 39	22	8,9 – 42,5	1	ND – 3,09
40 - 59	16,2	6,6 – 30,0	0,9	ND – 2,60
>60	11,9	4,9 – 21,6	0,7	ND – 1,80

* 95% percentiles

9. WARNING AND PRECAUTIONS

For IN VITRO DIAGNOSTIC use only

CAUTION : Radioactive material

This kit contains ^{125}I (half-life: 60 days), emitting ionizing X (28 keV) and γ (35.5 keV) radiations.

This radioactive product can be transferred to and used only by authorized persons; purchase, storage, use and exchange of radioactive products are subject to the legislation of the end user's country. In no case the product must be administered to humans or animals.

All radioactive handling should be executed in a designated area, away from regular passage. A logbook for receipt and storage of radioactive materials must be kept in the lab. Laboratory equipment and glassware, which could be contaminated with radioactive substances, should be segregated to prevent cross contamination of different radioisotopes.

Any radioactive spills must be cleaned immediately in accordance with the radiation safety procedures. The radioactive waste must be disposed of following the local regulations and guidelines of the authorities holding jurisdiction over the laboratory. Adherence to the basic rules of radiation safety provides adequate protection.

Do not smoke, drink, eat or apply cosmetics in the working area. Do not pipette by mouth. Use protective clothing and disposable gloves.

WARNING : Sodium azide

Some components contain sodium azide as preservative agent ($\text{NaN}_3 < 0,1\%$). Dispose of the reagents by flushing with large amount of water through the plumbing system.

WARNING : Potentially infectious material

Handle all components (and all patient samples) as if capable of transmitting viral diseases such as hepatitis B and C and the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS).

Source material derived from human body fluids or organs and used in the preparation of this kit were tested and found negative for HBsAg and anti-HCV by immunoassay. However, no known test can guarantee that such material does not contain the causative agent of viral hepatitis.

Likewise, all human materials used in the preparation of this kit were screened for the presence of antibodies against HIV-1 and -2 by enzyme-immunoassay and were found negative. However, absence of this antibody cannot guarantee the absence of the viral agent responsible for the acquired immunodeficiency syndrome.

10. BIBLIOGRAPHY

- Abraham G., Manlinos F. and Garza R. : Handbook of radioimmunoassay . Abraham G.(eds) Marcel Dekker, Inc. New York. 599, 1977
- Vermeulen A. : Androgen secretion by adrenals and gonads . in : Malesh V, Greenblatt RB, editors. Hirsutism and virilism . Boston : John Wright - PSG inc., 17 , 1983
- Green PJ. : Free testosterone determination by ultrafiltration and comparison with dialysis .Clinical Chemistry , 28 , 1237 , 1982
- Haning RV. : Testosterone free index correlates best with dehydroepiandrosterone sulfate Fertility and Sterility , 36 , 757 , 1981
- Biffignandi P., Massucchetti C., Molinatti GM. : Female hirsutism : pathophysiological consideration and therapeutic implications. Endocrine reviews , 5 , 498 , 1984.
- Manni A., Partridge WM., Cefalu W., Nisula BC. Bardin CW., Santner SJ., Santen RJ. : J. Clin. Endocrinol. Metab. 61 , 705 , 1985.
- Ekins RP : Free hormones in blood : concept and measurement. J. Clin. Immunoassay 7 , 163 , 1984.
- Nieschlag E. and Wickings EJ. : Role of testosterone in evaluation of testicular function. Radioassay systems in Clinical endocrinology , G. Abraham , ed. New York , 169 , 1981



Free TESTOSTERONE-RIA-CT

Pour la détermination quantitative de la Free Testosterone
dans le sérum humain

KIPI19000

IN VITRO DIAGNOSTIC USE

fr

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, Belgium - Tel: +32 67 88 99 99 - Fax : +32 67 88 99 96

1. Utilisation : Pour la détermination **IN VITRO** des taux en Testostérone Libre (FT) en cas de hirsutisme et de hypogonadisme.

La testostérone libre se diffuse à travers les membranes cellulaires et se lie à des protéines réceptrices spécifiques (récepteurs androgènes); les complexes récepteurs de Testostérone fonctionnent comme modulateurs de la transcription sur les régions cis-régulatrices de beaucoup de gènes.

Excès d'androgène chez des femmes cause l'hirsutisme et des signes de virilisation; les taux en testostérone dans le sérum doivent être déterminés avant et après la stimulation et la suppression ovariennes et surrénales pour identifier la source de la production excessive d'hormones.

Les hypogonadismes primaire et secondaire chez des hommes résultent en hypoandrogénisation en corrélation avec le degré de déficience gonadique dans la production de testostérone. La détermination de la testostérone sérique ensemble avec celle de la LH permet l'évaluation correcte de ces situations.

Le diagnostic de la vraie anorchie doit aussi distinguer cette situation du cryptorchidisme. Sous stimulation prolongée avec hCG, les taux en testostérone restent très bas en cas de vraie anorchie tandis que des testicules cryptorchides peuvent répondre à la stimulation.

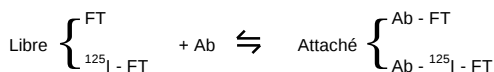
Des syndromes de résistance aux androgènes, dus aux déficiences du gène récepteur d'androgènes lié au chromosome X, sont faits de différents degrés d'ambiguïté sexuelle. Indépendamment de la gravité des anomalies phénotypiques, la testostérone sérique est systématiquement élevée dans ces situations par rapport aux taux en LH élevés.

Les tests pour la testostérone incluent les déterminations de la testostérone totale (directe, extraction, tubes coâtés) et de la testostérone libre.

La testostérone totale dans le plasma inclue la testostérone libre et liée au SHBG, à l'albumine, au CBG. Le pourcentage moyen de chacun dans des hommes normaux est respectivement de 2,7,32,65 et <0,1.

Des solvants rompent la liaison protéique dans les tests d'extraction tandis que les réactifs de blocage libèrent la testostérone des protéines dans les tests directs. L'avantage d'un test de testostérone libre est que les concentrations en testostérone libre sont en équilibre avec la testostérone liée aux récepteurs dans les organes.

2. PRINCIPE DE LA METHODE : La Free Testostérone (FT) CT RIA obéit à la loi de l'action de masse selon l'équation suivante:



Puisque les concentrations en ${}^{125}\text{I} - \text{FT}$ et les anticorps coâtés sont constants, l'état d'avancement de l'équation dépend de la concentration en FT. L'importance de ${}^{125}\text{I} - \text{FT}$ attaché au tube coâté est inversement proportionnelle à la concentration en FT dans l'échantillon.

Après l'incubation, le tube est aspiré afin de retirer l'excès du non attaché marqué T.

Les concentrations des échantillons du patient sont lues sur une courbe de calibration.

3. MATERIEL FOURNI ET ENTREPOSAGE:

Entreposer à 2 – 8°C, le matériel peut être utilisé jusqu'à la date d'expiration inscrite sur chaque étiquette.

- 3.1  2 x 48 tubes en Polypropylène (12 x 75 mm) coâtés avec des anticorps monoclonaux anti-Testostérone.
Systématiquement, permettre aux tubes coâtés d'atteindre la température ambiante avant utilisation.

- 3.2.

Ag	125I
----	------

 Traceur - Jaune - 42 mCi :
1 flacon ${}^{125}\text{I}$ -labellé analogue de Testostérone Libre dans un tampon protéique avec un préservateur ($\text{NaN}_3 < 0,1 \%$).
Chaque flacon contient moins de 185 Kbp (5 μCi)

- 3.3.

CAL	N
-----	---

 0,5 ml dans chaque fiole - N=0 à 6
7 fioles de FREE TESTOSTERONE en sérum humain contenant un préservateur ($\text{NaN}_3 < 0,1 \%$).
Les concentrations sont indiquées sur les étiquettes.

- 3.4.

CONTROL	N
---------	---

0,5 ml dans chaque fiole - N= 1 ou 2

2 fioles de sérum humain contenant un préservateur ($\text{NaN}_3 < 0,1 \%$). Le sérum de contrôle doit être réalisé en même temps que les échantillons des patients. Les valeurs des sérums de contrôle sont indiquées sur les étiquettes des fioles.

- 3.5.

WASH	SOLN	CONC
------	------	------

70 x concentré, 10 ml

1 flacon de solution concentrée et tamponnée contenant de l'azote de sodium ($\text{NaN}_3 < 0,1 \%$). Mettre en solution dans 700 ml d'eau distillée.

4. MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI:

- Les surfaces de travail doivent être protégées par du papier absorbant afin de réduire les effets des émanations radioactives.
- Containers pour déchets correctement étiquetés et désignés comme étant appropriés pour le matériel radioactif liquide et solide.
- Micropipettes précises soit manuelles soit automatisées pour la préparation des échantillons ou des réactifs sans contamination croisée.
- Papier absorbant.
- Pompe à vide connectée à une trappe pour l'aspiration.
- Bain-marie
- Shaker horizontal (max 350 rpm)
- Un compteur de scintillation gamma.
- Un papier graphique approprié pour calculer les résultats.

5. METHODOLOGIE:

5.1. Collecte et maniement des échantillons de sang:

L'échantillon de sang peut être collecté dans un tube sec.

Après la séparation des globules rouges, les échantillons de sérum peuvent être utilisés immédiatement, dans les 24 heures s'ils sont entreposés à 2 – 8°C ou plus tard, après une période pouvant aller jusqu'à plusieurs mois s'ils sont entreposés à –20°C. Les congélations et décongélations répétées doivent être évitées.

5.2. Procédure d'analyse:

Les réactifs entreposés à 2° - 8° C. doivent atteindre la température ambiante avant toute utilisation. Il ne faut jamais mélanger les réactifs provenant de différents lots. Etiquetter les tubes pour T (« Total Counts » ne pas utiliser de tubes coâtés) standards, échantillons et sérums de contrôle. Les standards et les contrôles doivent être mélangés en retournant ou en remuant plutôt qu'en agitant.

Réaliser les manipulations en double. Les standards, les contrôles et les échantillons doivent être préparés en même temps.

1. Courbe standard:

Pipetter 50 μl de chaque standard dans les tubes correspondants.

2. Echantillons inconnus et contrôles:

Pipetter 50 μl de chaque échantillon dans les tubes correspondants.

3. Ajouter 400 μl du traceur ${}^{125}\text{I}$ - TESTOSTERONE dans chaque tube. Mélanger avec un vortex et couvrir.

4. Incuber 2 heures $37 \pm 2^\circ\text{C}$.

5. Aspirer soigneusement ou décanter la solution de tous les tubes. (à l'exception des tubes "Total Counts").(avant de décanter, ajouter 2 ml de solution de lavage dans chaque tube)

6. Ajouter 2 ml de solution de lavage dans chaque tube. Aspirer ou décanter soigneusement.

7. Compter la radioactivité fixée dans chaque tube pendant au moins 60 secondes.

5.3. Traitement des données:

Déterminer la moyenne pour chaque série de tubes.

Calculer le ratio B/B0 de la manière suivante :

$$B/B0 \% = [\text{Std or Smp cpm} / B0 (\text{Std 0}) \text{cpm}] \times 100$$

Dessiner la courbe standard sur du papier semilogarithmique en traçant le ratio B/B0 % (échelle linéaire) obtenu pour chaque standard versus sa concentration respective exprimée en pg/ml (échelle logarithmique). Les concentrations en FREE TESTOSTERONE peuvent être lues directement à partir de la courbe standard.

Si un ordinateur est utilisé pour calculer les résultats, les données peuvent être ajustées par l'équation appropriée: 4 PL pondéré.

5.4. Exemple d'une courbe typique:

	Contenu (pg/ml)	cpm 1st duplicate	cpm 2nd duplicate	Mean count rate	B/Bo (%)	Free Testosterone (pg/ml)
Activité totale	-	52039	51647	51843	-	-
Cal 0	0	25839	25961	25900	100	-
Cal 1	0,3	21086	21170	21128	81,6	-
Cal 2	1	46509	16203	16356	63,2	-
Cal 3	3	12437	12428	12433	48	-
Cal 4	10	8317	7916	8117	31,3	-
Cal 5	30	5017	4711	4864	18,8	-
Cal 6	90	2611	2528	2570	9,9	-
C 1	1,5 – 2,9	13461	13557	13508	52,2	2,3
C 2	15 – 29	5736	5002	5369	20,8	21
Echantillon 1		17478	16742	16975	65,5	0,86
Echantillon 2		7538	7423	7481	28,9	11,5
Echantillon 3		4681	4645	4663	24,3	33

Exemple d'une estimation typique, à ne pas utiliser pour les calculs

6. Caractéristiques de performance:

6.1. Spécificité:

Stéroïde	% réactions croisées
Testosterone	100
5α DHT	0,006
androstenedione	0,02
β estradiol	0,0003
DHEA-S	0,000001
Androsterone, Corticosterone, 11 DOC, estriol, estrone, progesterone, DHEA	N.D.

6.2. Concentration minimale détectable de FREE TESTOSTERONE:

La concentration minimale détectable est estimée à 0.13 pg/ml et correspond à la concentration donnée par 2 déviations standards en dessous de la moyenne cpm de 20 déterminations répliquées du standard 0.

6.3. Reproductibilité:

	Valeur moyenne (pg/ml)	Variation intra essai (% CV) 10 replicates	Variation interessai (% CV) 7 essais différents en double
Pool 1	0.73	11.4	18.07
Pool 2	10.89	5.7	6.72
Pool 3	33.94	9.3	8.46

7. LIMITATION DE LA PROCEDURE:

- Les résultats obtenus à partir de ceci ou de tout autre kit de diagnostic devraient être utilisés et interprétés seulement dans le contexte d'une image clinique globale.
- Ne pas utiliser d'échantillons lipémiques, hémolysés, ictériques ou troubles.
- Ne pas utiliser d'échantillons plasma

8. VALEURS ATTENDUES:

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs de référence.

Groupes d'âges	Hommes (pg/ml)		Femelles (pg/ml)	
	Médiane	Portée *	Médiane	Portée *
<20	-	0,2 – 42,5	0,95	ND – 3,09
20 - 39	22	8,9 – 42,5	1	ND – 3,09
40 - 59	16,2	6,6 – 30,0	0,9	ND – 2,60
>60	11,9	4,9 – 21,6	0,7	ND – 1,80

* 95% percentiles

9. DANGERS ET PRECAUTIONS:

A utiliser uniquement pour des diagnostics in vitro

PRUDENCE: matériel radioactif

Cette trousse contient de ^{125}I (demi-vie: 60 jours), une matière radioactive émettant des rayonnements ionisants X (28 keV) et γ (35,5 keV).

Ce produit radioactif peut uniquement être reçu, acheté, possédé ou utilisé par des personnes autorisées; l'achat, le stockage, l'utilisation et l'échange de produits radioactifs sont soumis à la législation du pays de l'utilisateur final. Ce produit ne peut en aucun cas être administré à l'homme ou aux animaux.

Toutes les manipulations radioactives doivent être exécutées dans un secteur désigné, éloigné de tout passage. Un journal de réception et de stockage des matières radioactives doit être tenu à jour dans le laboratoire. L'équipement de laboratoire et la verrerie, qui pourrait être contaminée avec des substances radioactives, doivent être isolés afin d'éviter la contamination croisée de plusieurs isotopes.

Toute contamination ou perte de substance radioactive doit être réglée conformément aux procédures de radio sécurité. Les déchets radioactifs doivent être placés de manière à respecter les réglementations en vigueur. L'adhésion aux règles de base de sécurité concernant les radiations procure une protection adéquate.

Ne pas fumer, ni boire, ni manger ni appliquer de produits cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des vêtements protecteurs et des gants à usage unique.

DANGER: azoture de sodium

Certains composants contiennent de l'acide de sodium comme agent préservatif ($\text{NaN}_3 < 0,1\%$). Se débarrasser des réactifs en versant de grande quantité d'eau par le système de plomberie.

DANGER: matériel potentiellement infectieux

Manipuler tous les composants (et tous les échantillons des patients) comme s'ils sont capables de transmettre des maladies virales comme l'hépatite B et C et le syndrome d'immunodéficience acquis (SIDA).

Le matériel d'origine provenant d'organes et de liquides du corps humain et utilisé dans la préparation de ce kit ont été testé et ont obtenu des résultats négatifs pour l'hépatite B et C antigène de surface par immunoessai. Cependant, aucun test connu ne peut garantir qu'un tel matériel ne contient pas d'agent causatif d'hépatites virales.

De plus, tous les matériels humains utilisés dans la préparation de ce kit ont été examinés afin de déterminer la présence d'anticorps HIV-1 et 2 et ont obtenu des résultats négatifs par immunoessai enzymatique. Cependant, l'absence de cet anticorps ne peut pas garantir l'absence d'un agent viral responsable du syndrome d'immunodéficience acquis (SIDA).

10. BIBLIOGRAPHY

- Abraham G., Manlinos F. and Garza R. : Handbook of radioimmunoassay . Abraham G.(eds) Marcel Dekker, Inc. New York. 599, 1977
- Vermeulen A. : Androgen secretion by adrenals and gonads . in : Malesh V, Greenblatt RB, editors. Hirsutism and virilism . Boston : John Wright - PSG inc., 17, 1983
- Green PJ. : Free testosterone determination by ultrafiltration and comparison with dialysis .Clinical Chemistry , 28 , 1237 , 1982
- Haning RV. : Testosterone free index correlates best with dehydroepiandrosterone sulfate Fertility and Sterility , 36 , 757 , 1981
- Biffignandi P., Massucchetti C., Molinatti GM. : Female hirsutism : pathophysiological consideration and therapeutic implications. Endocrine reviews , 5 , 498 , 1984.
- Manni A., Partridge WM., Cefalu W., Nisula BC. Bardin CW., Santner SJ., Santen RJ. : J. Clin. Endocrinol. Metab. 61 , 705 , 1985.
- Ekins RP : Free hormones in blood : concept and measurement. J. Clin. Immunoassay 7 , 163 , 1984.
- Nieschlag E. and Wickings EJ. : Role of testosterone in evaluation of testicular function. Radioassay systems in Clinical endocrinology , G. Abraham , ed. New York , 169 , 1981

Date de révision : 2010-03-10



Free TESTOSTERONE-RIA-CT

Radioimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von freiem Testosteron
in Humanserum

KIPI19000

IN VITRO DIAGNOSE

de

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, Belgium - Tel: +32 67 88 99 99 - Fax : +32 67 88 99 96

1. VERWENDUNGSZWECK: IN VITRO Bestimmung der Werte von freiem Testosteron (FT) bei Hirsutismus und Hypogonadismus.

Freies Testosteron diffundiert durch Zellmembranen und wird an spezifische Rezeptorproteine (Androgenrezeptoren) gebunden; die Testosteron-Rezeptor-Komplexe agieren als Transkriptionsmodulatoren auf cis-regulatorische Sequenzen vieler Gene.

Überhöhte Mengen an Androgenen bei Frauen verursachen Hirsutismus und Zeichen einer Virilisierung; der Serumtestosteronspiegel muss vor und nach ovarialer und adreneraler Stimulierung und Suppression bestimmt werden, um den Ursprung der überhöhten Hormonproduktion zu identifizieren.

Primärer und sekundärer Hypogonadismus bei Männern führen zu klinischer Hypoandrogenisierung, die mit dem Grad des Gonadenversagens bei der Testosteronproduktion in Zusammenhang steht. Die kombinierte Bestimmung von Serumtestosteron und LH erlaubt die korrekte Beurteilung dieser Erkrankungen.

Die Diagnose einer echten Anarchie erfordert die Differenzierung dieser Erkrankung vom Kryptorchismus. Unter verlängerter hCG-Stimulierung bleibt der Testosteronspiegel bei echter Anarchie sehr niedrig, während die Testes bei Kryptorchismus auf die Stimulierung reagieren können.

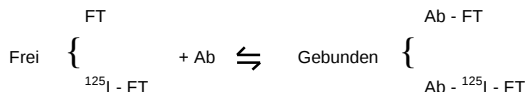
Androgenresistenzsyndrome aufgrund X-gebundener Androgenrezeptor-Gendefizienzen umfassen verschiedene Grade geschlechtlicher Ambiguität. Ungeachtet der Schwere der phänotypischen Anomalien ist das Serumtestosteron bei diesen Erkrankungen in Bezug auf die erhöhten LH-Serumwert systematisch erhöht.

Testosteronassays umfassen die Bestimmungen von Gesamttestosteron (direkt, Extraktion, beschichtete Röhrchen) und freiem Testosteron.

Gesamttestosteron im Plasma umfasst freies Testosteron und an SHBG, Albumin, CBG gebundenes Testosteron. Die jeweiligen Mittelwerte beim gesunden Mann sind respektive 2,7, 32, 65 und < 0,1.

In Extraktionsassays brechen Lösungsmittel die Proteinbindung auf, während in direkten Assays Blocker Testosteron von Proteinen freisetzen. Der Vorteil eines freien Testosteron-Assays besteht darin, dass die Konzentrationen an freiem Testosteron sich mit dem in den Organen an Rezeptoren gebundenen Testosteron im Gleichgewicht befinden.

2. TESTPRINZIP: Der freie Testosteron (FT) CT RIA unterliegt dem Gesetz der Massenwirkung nach der folgenden Gleichung:



Da die Konzentrationen an $125\text{I} - \text{FT}$ und beschichteten Antikörpern konstant sind, hängt der Fortgang der Gleichung von der Konzentration von FT ab. Die Menge an $125\text{I} - \text{FT}$, die an die beschichteten Röhrchen gebunden ist, ist umgekehrt proportional zur FT-Konzentration in der Probe.

Nach der Inkubation wird das Röhrchen aspiriert, um Überschüsse an nicht gebundenem markiertem T zu entfernen.

Die Konzentrationen der Patientenproben werden aus einer Standardkurve abgelesen.

3. MITGELIEFERTES MATERIAL UND LAGERUNG:

Bei Lagerung bei 2 - 8°C kann das Material bis zum Verfalldatum verwendet werden, das auf jedes Etikett gedruckt ist.

- 3.1.

--

 2 x 48 Polypropylenröhrchen (12 x 75 mm), beschichtet mit polyklonalen Anti-Testosteron Antikörpern.
Vor Gebrauch müssen die beschichteten Röhrchen Raumtemperatur erreicht haben.
- 3.2.

Ag	125I
----	------

 Gelb, 42 ml.
1 Flasche mit 125I -markiertem Freies Testosteron-Analog in einem Proteinpuffer mit Konservierungsmittel ($\text{Na}_3\text{S}_2\text{O}_5$ < 0,1%).
Jede Flasche enthält weniger als 185 kBq (5 μCi).
- 3.3.

CAL	N
-----	---

 0,5 ml in jedem Gefäß – N = 0 bis 6.
7 Gefäße FREIES TESTOSTERON in Humanserum mit Konservierungsmittel ($\text{Na}_3\text{S}_2\text{O}_5$ < 0,1%).
Die Konzentrationen sind auf den Etiketten angeführt.
- 3.4.

CONTROL	N
---------	---

 0,5 ml in jedem Gefäß – N = 1 oder 2.
2 Gefäße Humanserum mit Konservierungsmittel ($\text{Na}_3\text{S}_2\text{O}_5$ < 0,1%). Die Kontrollseren müssen gemeinsam mit den Patientenproben im Assay getestet werden. Die Bereiche für die Kontrollseren sind auf die Gefäßetiketten gedruckt.

3.5.

70 x konzentriert, 10 ml.

1 Flasche konzentrierte Pufferlösung mit Natriumazid (NaN_3 < 0,1%). Lösung in 700 ml destilliertes Wasser gießen.

WASH	SOLN	CONC
------	------	------

4. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL (NICHT MITGELIEFERT):

- Schutz für Arbeitstischoberflächen durch Saugpapier, um die Wirkung verschütteter radioaktiver Substanzen zu reduzieren.
- Geeignet gekennzeichnete Abfallbehälter für feste oder flüssige radioaktive Materialien.
- Manuelle oder automatisierte Präzisions-Mikropipetten zum Pipettieren von Proben oder Reagenzien ohne Kreuzkontamination.
- Saugpapier.
- Vakuumpumpe, verbunden über eine Falle, zum Absaugen.
- Wasserbad.
- Gegenlauf- oder Orbitalschüttler (max. 350 Upm).
- Gammazintillationszähler.
- Geeignetes Millimeterpapier zum Auftragen der Resultate.

5. METHODIK:

5.1. Gewinnung und Handhabung von Blutproben:

Die Blutprobe kann in ein trockenes Röhrchen eingebracht werden.

Nach der Trennung von den roten Blutkörperchen können Serumproben sofort getestet werden, bei Lagerung bei 2 - 8°C innerhalb von 24 Stunden oder bei Lagerung bei -20°C noch später, nach einem Zeitraum von bis zu mehreren Monaten. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden.

5.2. Testdurchführung:

Bei 2 - 8°C gelagerte Reagenzien müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht werden. Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen nicht vermischen. Röhrchen für T (Total Counts – Gesamt) keine beschichteten Röhrchen verwenden, Kalibratoren, Proben und Kontrollen beschriften. Kalibratoren und Kontrollen sollten vor Gebrauch eher durch Umdrehen oder Drehen als durch Vortexen gemischt werden.

Assay doppelt ausführen. Kalibratoren, Kontrollen und Proben müssen zugleich getestet werden.

1. Kalibratorkurve:

50 μl jedes Kalibrators in die entsprechenden Röhrchen pipettieren.

2. Proben und Kontrollseren:

50 μl jeder Probe oder jedes Kontrollserums in die entsprechenden Röhrchen pipettieren.

3. 400 μl 125I - TESTOSTERON Analogtracer in jedes Röhrchen zupipettieren. Vortexen und abdecken.

4. 2 Stunden bei $37^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ inkubieren.

5. Die Lösung aus allen Röhrchen (außer Röhrchen T) vorsichtig absaugen oder dekantieren (vor dem Dekantieren 2 ml Waschlösung in jedes Röhrchen zupipettieren).

6. 2 ml Waschlösung in jedes Röhrchen zupipettieren. Sorgfältig absaugen oder dekantieren.

7. In jedem Röhrchen fixierte Radioaktivität mindestens 60 Sekunden zählen.

5.3. Datenverarbeitung:

Mittlere Zählrate für jedes Röhrchenpaar bestimmen.

Verhältnis B/B0 folgendermaßen bestimmen:

$$B/B0 \% = [\text{Cal oder Prb cpm} / B0 (\text{Cal } 0) \text{ cpm}] \times 100$$

Kalibratorkurve auf semilogarithmisches Papier zeichnen, indem das für jeden Kalibrator erhaltene Verhältnis B/B0 % (linear) gegenüber seiner jeweiligen in pg/ml ausgedrückten Konzentration (logarithmisch) aufgetragen wird. FREIES TESTOSTERON-Konzentrationen in den Proben können direkt aus der Kalibratorkurve abgelesen werden.

Wenn zur Berechnung der Resultate ein Computer verwendet wird, können die Daten in die geeignete Gleichung eingebracht werden: „Smoothed Spline“.

5.4. Beispiel eines typischen Assay:

	Inhalt (pg/ml)	cpm 1. Duplikat	cpm 2. Duplikat	Mittlere Zählrate	B/Bo (%)	Freies Testosteron (pg/ml)
Gesamt	-	52039	51647	51843	-	-
Cal 0	0	25839	25961	25900	100	-
Cal 1	0,3	21086	21170	21128	81,6	-
Cal 2	1	46509	16203	16356	63,2	-
Cal 3	3	12437	12428	12433	48	-
Cal 4	10	8317	7916	8117	31,3	-
Cal 5	30	5017	4711	4864	18,8	-
Cal 6	90	2611	2528	2570	9,9	-
C 1 niedrig	1,5 – 2,9	13461	13557	13508	52,2	2,3
C 2 hoch	15 – 29	5736	5002	5369	20,8	21
Probe 1		17478	16742	16975	65,5	0,86
Probe 2		7538	7423	7481	28,9	11,5
Probe 3		4681	4645	4663	24,3	33

Beispiel eines typischen Assay, nicht für Berechnungen verwenden.

6. LEISTUNGSMERKMALE:

6.1. Spezifität:

Steroid	% Kreuzreaktivität
Testosteron	100
5 α -DHT	0,006
Androstendion	0,02
β -Östradiol	0,0003
DHEA-S	0,000001
Androsteron, Kortikosteron, 11 DOC, Östriol, Östron, Progesteron, DHEA	N.D

6.2. Untere Nachweisgrenze von FREIEM TESTOSTERON:

Die untere Nachweisgrenze beträgt 0,13 pg/ml und entspricht der Konzentration von zwei Standardabweichungen unter dem cpm-Mittelwert von 20 Replikationsbestimmungen der Nullkalibrator.

6.3. Vergleichspräzision:

	Mittelwert (pg/ml)	Intra-Assay-Variation (% CV) 10 Wiederholungen	Inter-Assay-Variation (% CV) 7 getrennte Assays in Duplicat
Pool 1	0.73	11.4	18.07
Pool 2	10.89	5.7	6.72
Pool 3	33.94	9.3	8.46

7. GRENZEN DES VERFAHRENS:

- Die durch diesen oder jeden anderen diagnostischen Testkit erhaltenen Resultate sollten nur im Kontext eines klinischen Gesamtbildes verwendet und interpretiert werden.
- Keine lipämischen, hämolytischen, ikterischen oder getrübbten Proben verwenden.
- Keine Plasmaproben verwenden.

8. ERWARTETE WERTE:

Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Referenzwerte erstellt.

Altersgruppe	Männer (pg/ml)		Frauen (pg/ml)	
	Median	Bereich *	Median	Bereich *
<20	-	0,2 – 42,5	0,95	ND – 3,09
20 - 39	22	8,9 – 42,5	1	ND – 3,09
40 - 59	16,2	6,6 – 30,0	0,9	ND – 2,60
>60	11,9	4,9 – 21,6	0,7	ND – 1,80

* 95% perzentilen

9. VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNUNGEN:

Nur zur Verwendung in der IN VITRO DIAGNOSE!

VORSICHT: Radioaktives Material

Dieser Kit enthält ¹²⁵I (Halbwertszeit: 60 Tagen), das ionisierende X (28 keV) und γ (35,5 keV) Strahlungen emittiert.

Dieses radioaktive Produkt kann nur an autorisierte Personen abgegeben und darf nur von diesen angewendet werden; Erwerb, Lagerung, Verwendung und Austausch radioaktiver Produkte sind Gegenstand der Gesetzgebung des Landes des jeweiligen Endverbrauchers. In keinem Fall darf das Produkt an Menschen oder Tieren angewendet werden.

Der Umgang mit radioaktiven Substanzen sollte fern von Durchgangsverkehr in einem speziell ausgewiesenen Bereich stattfinden. Ein Logbuch für Protokolle und Aufbewahrung muss im Labor sein. Die Laborausstattung und die Glasbehälter, die mit radioaktiven Substanzen kontaminiert werden können, müssen ausgesondert werden, um Kreuzkontaminationen mit unterschiedlichen Radioisotopen zu verhindern. Verschüttete radioaktive Substanzen müssen sofort den Sicherheitsbestimmungen entsprechend entfernt werden. Radioaktive Abfälle müssen entsprechend den lokalen Bestimmungen und Richtlinien der für das Labor zuständigen Behörden gelagert werden. Das Einhalten der Sicherheitsbestimmungen für den Umgang mit radioaktiven Substanzen gewährleistet ausreichenden Schutz.

Bitte rauchen, trinken, essen Sie nicht in Ihrem Arbeitsbereich, und verwenden Sie keine Kosmetika. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Verwenden Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

WARNUNG: Natriumazid

Einige Komponenten enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel ($\text{NaN}_3 < 0,1\%$). Reagenzien durch Spülen mit reichlich Wasser über die Kanalisation entsorgen.

WARNUNG: Potenziell infektiöses Material

Gehen Sie mit allen Komponenten (und allen Patientenproben) so um, als ob sie virale Erkrankungen wie Hepatitis B und C und AIDS (acquired immunodeficiency syndrome) übertragen könnten.

Ausgangsmaterial aus menschlichen Körperflüssigkeiten oder Organen, die bei der Vorbereitung dieses Kits verwendet wurden, wurden getestet und für HBsAg und Anti-HCV durch Immunoassay für negativ befunden. Kein bekannter Test kann jedoch garantieren, dass solches Material nicht den Erreger viraler Hepatitis enthält.

Ebenso wurden alle Materialien menschlichen Ursprungs, die bei der Vorbereitung dieses Kits verwendet wurden, durch Enzym-Immunoassay auf die Anwesenheit von Antikörpern gegen HIV-1 und -2 getestet und für negativ befunden. Die Abwesenheit dieses Antikörpers kann jedoch nicht die Abwesenheit des viralen Erregers garantieren, der für AIDS verantwortlich ist.

10. LITERATUR:

- Abraham G., Manlinos F. and Garza R. : Handbook of radioimmunoassay. Abraham G.(eds) Marcel Dekker, Inc. New York. 599, 1977.
- Vermeulen A. : Androgen secretion by adrenals and gonads . in : Malesh V, Greenblatt RB, editors. Hirsutism and virilism . Boston : John Wright - PSG inc., 17, 1983.
- Green PJ. : Free testosterone determination by ultrafiltration and comparison with dialysis .Clinical Chemistry , 28 , 1237 , 1982.
- Haning RV. : Testosterone free index correlates best with dehydroepiandrosterone sulphate. Fertility and Sterility , 36 , 757 , 1981.
- Biffignandi P., Massucchetti C., Molinatti GM. : Female hirsutism : pathophysiological consideration and therapeutic implications. Endocrine reviews , 5 , 498 , 1984.
- Manni A., Partridge WM., Cefalu W., Nisula BC. Bardin CW., Santner SJ., Santen RJ. : J. Clin. Endocrinol. Metab. 61 , 705 , 1985.
- Ekins RP : Free hormones in blood : concept and measurement. J. Clin. Immunoassay 7 , 163 , 1984.
- Nieschlag E. and Wicking EJ. : Role of testosterone in evaluation of testicular function. Radioassay systems in Clinical endocrinology , G. Abraham , ed. New York , 169 , 1981.

Revisionsdatum : 2010-03-10



Free TESTOSTERONE-RIA-CT

Radioinmunoensayo para la determinación cuantitativa de la Testosterona

Libre en Suero Humano

KIPI19000

USO DIAGNÓSTICO IN VITRO

es

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, Belgium - Tel: +32 67 88 99 99 - Fax : +32 67 88 99 96

1. USO : Para la determinación IN VITRO de los niveles de Testosterona Libre (FT) en hirsutismo y hipogonadismo.

La testosterona libre se difunde a través de las membranas celulares y se liga a proteínas receptoras específicas (receptores andrógenos); los complejos receptores de testosterona funcionan como moduladores transcripcionales en regiones cis-reguladores de muchos genes.

Exceso de andrógenos en mujeres causa hirsutismo y señales de virilización; El nivel de testosterona en suero debe ser determinado antes y después del estímulo y de la supresión ováricos y suprarrenales para identificar el origen de la producción hormonal excesiva.

Los hipogonadismos primario y secundario en hombres resultan en hipoandrogenización clínica, correlativa con el grado de falla renal en la producción de testosterona. La determinación de testosterona en suero con la determinación de LH permite la evaluación correcta de estas condiciones.

El diagnóstico de anorquidia genuina también necesita la distinción entre esta condición y la criptorquidia. Con estímulo prolongado de hCG, los niveles de testosterona quedan muy bajos en anorquidia genuina mientras que testículos criptorquídicos pueden responder al estímulo.

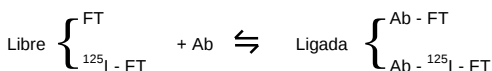
Síndromes de resistencia al andrógeno, debidos a deficiencias del gene receptor del andrógeno ligado al cromosoma X, son hechos de varios grados de ambigüedad sexual. Independientemente de la gravedad de las anomalías fenotípicas, la testosterona en el suero es sistemáticamente elevada en proporción con niveles elevados de LH en suero en estas condiciones.

Ensayos para testosterona incluyen determinaciones de la testosterona total (directa, extracción, tubos recubiertos) y libre.

La testosterona en plasma total incluye la testosterona libre y la testosterona ligada al SHBG, a la albumina, al CBG. El porcentaje medio de cada uno en hombres normales es respectivamente de 2,7, 32, 65 y <0.1.

Solventes rompen la ligación proteica en ensayos de extracción mientras que reactivos de bloqueo liberan la testosterona de las proteínas en ensayos directos. La ventaja de un ensayo para testosterona es que las concentraciones de testosterona libre están en equilibrio con la testosterona ligada a los receptores en los órganos.

2. PRINCIPIOS DEL MÉTODO : El Free Testosterone (FT) CT RIA obedece al ley de la acción de masa según la siguiente ecuación :



Visto que las concentraciones de la ${}^{125}\text{I} - \text{FT}$ y de los anticuerpos recubiertos son constantes, la evolución de la ecuación depende de la concentración de FT. La cantidad de ${}^{125}\text{I} - \text{FT}$ ligada al tubo recubierto es inversamente proporcional a la concentración de FT en la muestra.

Después de la incubación, el tubo es aspirado para quitar la T no ligada restante.

Las concentraciones de las muestras de los pacientes se leen de una curva de calibración.

3. MATERIAL SUMINISTRADO Y PRESERVACIÓN:

Guardado a 2 - 8°C, el material puede ser utilizado hasta la fecha de caducidad indicada en cada etiqueta.

- 3.1.

--	--

 2 x 48 tubos de polipropileno (12 x 75 mm) recubiertos con anticuerpos policlonales anti-Testosterona.
Permitir sistemáticamente que los tubos recubiertos alcancen temperatura ambiente antes de su empleo.
- 3.2.

Ag	125I
----	------

 amarillo, 42 ml
1 bottella de análogo TESTOSTERONA Libre marcada con ${}^{125}\text{I}$ en tampón con proteína y un preservativo ($\text{NaN}_3 < 0.1 \%$).
Cada bottella contiene menos de 185 Kbpq (5 μCi)
- 3.3.

CAL	N
-----	---

 0,5 ml en cada pomo - N=0 a 6
7 pomos de TESTOSTERONA LIBRE en suero humano conteniendo un preservativo ($\text{NaN}_3 < 0.1 \%$).
Las concentraciones están indicadas en las etiquetas.
- 3.4.

CONTROL	N
---------	---

 0,5 ml en cada pomo - N=1 or 2
2 pomos de suero humano conteniendo un preservativo ($\text{NaN}_3 < 0.1 \%$). Los sueros de control deben ser probados al mismo tiempo que los muestras de los pacientes. Los alcances para los sueros de control están indicados en las etiquetas de los pomos.

- 3.5.

WASH	SOLN	CONC
------	------	------

 concentración x 70, 10 ml
1 vial de solución de lavado concentrada que contiene $\text{NaN}_3 < 0.1 \%$. Trasvasar la solución en 700 ml de agua destilada.

4. MATERIAL REQUERIDO PERO NO SUMINISTRADO :

- Superficies de banco, protegido por papel secante para reducir los efectos del excedente radiactivo.
- Contenedores de residuos, marcados convenientemente y aptos para materiales radiactivos sólidos o líquidos.
- Micropipetas manuales o automáticas para dispensar las muestras o los reactivos sin contaminación cruzada.
- Papel secante.
- Bomba de vacío, vinculada por una válvula, para la aspiración.
- Baño María
- Agitador recíprocante o orbital (max. 350 rpm).
- Un contador de radiaciones gama
- Papel gráfico apropiado para indicar los resultados.

5. METODOLOGÍA

5.1. Colección y maneja de las muestras de sangre :

La muestra de sangre puede ser coleccionada en un tubo seco.

Después de la separación de los globules rojos, las muestras de suero pueden ser probadas inmediatamente, en 24 horas si se guardan a 2 - 8°C, o más tarde, después de un período de unos meses se se guardan a -20°C. Evitar congelar y descongelar sucesivamente.

5.2. Procedimiento del ensayo :

Los reactivos guardados a 2°- 8° C. deben ser a temperature ambiente antes del uso. No mezclar reactivos de series diferentes. Marcar los tubos para T (« Cuentas Totales » no utilizar tubos recubiertos) calibradores, muestras y controles. Los calibradores y controles deben ser mezclados antes del uso por inversión o rotación ; no vortexear.

Hacer el ensayo en duplicado. Calibradores, controles y muestras deben ser probados a la misma hora.

1. Curva de calibración :

Pipetar 50 μl de cada calibrador en los tubos apropiados.

2. Muestras y sueros de control :

Pipetar 50 μl de cada muestra o suero de control en los tubos apropiados.

3. Añadir 400 μl de trazador análogo de ${}^{125}\text{I} - \text{TESTOSTERONA}$ a cada tubo. Mezclar con un vortex y cover.

4. Incubar 2 horas a $37 \pm 2^\circ\text{C}$.

5. Prudentemente aspirar o decantar la solución de cada tubo. (Excepto los tubos de cuentas totales) (antes de decantar, añadir 2 ml de solución de lavado a cada tubo).

6. Añadir 2 ml de solución de lavado a cada tubo. Aspirar o decantar prudentemente.

7. Contar la radiactividad fijada en cada tubo durante al menos 60 segundos.

5.3. Procesamiento de los datos :

Determinar la proporción de recuento media para cada juego de tubos en duplicado.

Calcular la razón B/B0 según :

$$B/B0 \% = [\text{Cal o Smp cpm} / B0 (\text{Cal 0}) \text{cpm}] \times 100$$

Hacer la curva de calibración sobre papel semilogarítmico por la realización de la razón B/B0 % (escala lineal) obtenida para cada calibrador frente a su concentración respectiva expresada en pg/ml (escala logarítmica). Las concentraciones de TESTOSTERONA LIBRE en las muestras se pueden leer directamente de la curva de calibración.

Si se utilice un ordenador para calcular los resultados, los datos pueden ser utilizados en la ecuación apropiada: spline suavizado.

5.4. Ejemplo de un ensayo típico :

	Contenidos (pg/ml)	cpm 1 duplicado	cpm 2 duplicado	Proporció n de recuento media	B/Bo (%)	Free Testosterone (pg/ml)
Cuentas totales	-	52039	51647	51843	-	-
Cal 0	0	25839	25961	25900	100	-
Cal 1	0,3	21086	21170	21128	81,6	-
Cal 2	1	46509	16203	16356	63,2	-
Cal 3	3	12437	12428	12433	48	-
Cal 4	10	8317	7916	8117	31,3	-
Cal 5	30	5017	4711	4864	18,8	-
Cal 6	90	2611	2528	2570	9,9	-
C 1 bajo	1,5 – 2,9	13461	13557	13508	52,2	2,3
C 2 elevado	15 – 29	5736	5002	5369	20,8	21
Muestra 1		17478	16742	16975	65,5	0,86
Muestra 2		7538	7423	7481	28,9	11,5
Muestra 3		4681	4645	4663	24,3	33

Ejemplo de un ensayo típico, no utilizar para cálculos

6. CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO :

6.1.

Esteroides	% Reactividad cruzada
Testosterona	100
5α DHT	0.006
Andostenediona	0.02
β estradiol	0.0003
DHEA-S	0.000001
Androsterona, Corticosterona, 11 DOC, estriol, estrona, progesterona, DHEA	N.D.

6.2. Concentración mínima detectable de TESTOSTERONA LIBRE :

La concentración mínima detectable ha sido probada a 0.13 pg/ml y corresponde a la concentración obtenida de dos desviaciones estándar debajo del cpm medio de 20 determinaciones replicadas del calibrador.

6.3. Reproducibilidad :

	Valor medio (pg/ml)	Dentro de la variación del ensayo (% CV) 10 réplicas	Entre la variación del ensayo (% CV) 5 ensayos separados en duplicado
Serie 1	0.73	11.4	18.07
Serie 2	10.89	5.7	6.72
Serie 3	33.94	9.3	8.46

7. LIMITACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

- 7.1. Los resultados obtenidos de este o otro ensayo diagnóstico deben ser utilizados y interpretados solamente en el contexto de una vista clínica general.
- 7.2. No utilizar especímenes lipémicos, hemolizados, ictericos o turbios.
- 7.3. No utilizar muestras plasmáticas

8. VALORES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio establece sus propios valores de referencia.

Grupo de edad	Hombres (pg/ml)		Mujeres (pg/ml)	
	Media	Alcance *	Media	Alcance *
<20	-	0,2 – 42,5	0,95	ND – 3,09
20 - 39	22	8,9 – 42,5	1	ND – 3,09
40 - 59	16,2	6,6 – 30,0	0,9	ND – 2,60
>60	11,9	4,9 – 21,6	0,7	ND – 1,80

* 95% percentilos

9. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso solo en diagnóstico IN VITRO

ADVERTENCIA : material radiactivo

Este kit contiene ¹²⁵I (vida media : 60 días) emisor de rayos X (28 keV) y de rayos γ (35,5 keV) ionizantes. Este producto radiactivo solo puede ser manejado y utilizado por personas autorizadas; la compra, almacenaje, uso y cambio de productos radiactivos están sujetos a la legislación del país del usuario. En ningún caso el producto deberá ser suministrado a humanos y animales. Todo el manejo de producto radiactivo se hará en una área señalizada, diferente de la de paso regular. Deberá de utilizarse un libro de registros de productos radiactivos utilizados. El material de laboratorio, vidrio que podría estar contaminado radiactivamente deberá de descontaminarse para evitar la contaminación con otros isótopos. Cualquier derramamiento radiactivo deberá ser limpiado de inmediato de acuerdo con los procedimientos de seguridad. Los desperdicios radiactivos deberán ser almacenados de acuerdo con las regulaciones y normativas vigentes de la legislación a la cual pertenezca el laboratorio. El ajustarse a las normas básicas de seguridad radiológica facilita una protección adecuada. No fumar, beber, comer ó utilizar cosméticos en el área de trabajo. No pipetear con la boca. Utilizar ropa de protección y guantes.

ADVERTENCIA : Azida sódica

Unos componentes contienen azida sódica como preservativo (NaN₃ < 0,1%). Tirar los reactivos con abundante agua en el alcantarillado.

ADVERTENCIA : Material potencialmente infeccioso

Manejar cada componente del ensayo (y cada muestra de paciente) como transmisor potencial de enfermedades virales como hepatitis B y C y el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA).

Los componentes derivados de fluidos o órganos humanos utilizados en la preparación de este ensayo han sido probados por inmunoensayo dando negativo a HBsAg y anti-HCV. Sin embargo, no se conoce ningún método que asegure que este material no contiene la causa de hepatitis viral.

Asimismo, cada componente humano utilizado en la preparación de este ensayo ha sido probado por inmunoensayo enzimático dando negativo a la presencia de anticuerpos anti-HIV-1 y -2. No obstante, la ausencia de este anticuerpo no puede garantizar la ausencia de un componente viral responsable del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida.

10. BIBLIOGRAFIA

1. Abraham G., Manlinos F. and Garza R. : Handbook of radioimmunoassay . Abraham G.(eds) Marcel Dekker, Inc. New York. 599, 1977
2. Vermeulen A. : Androgen secretion by adrenals and gonads . in : Malesh V, Greenblatt RB, editors. Hirsutism and virilism . Boston : John Wright - PSG inc., 17 , 1983
3. Green PJ. : Free testosterone determination by ultrafiltration and comparison with dialysis .Clinical Chemistry , 28 , 1237 , 1982
4. Haning RV. : Testosterone free index correlates best with dehydroepiandrosterone sulfate Fertility and Sterility , 36 , 757 , 1981
5. Biffignandi P., Massucchetti C., Molinatti GM. : Female hirsutism : pathophysiological consideration and therapeutic implications. Endocrine reviews , 5 , 498 , 1984.
6. Manni A., Partridge WM., Cefalu W., Nisula BC. Bardin CW., Santner SJ., Santner RJ. : J. Clin. Endocrinol. Metab. 61 , 705 , 1985.
7. Ekins RP : Free hormones in blood : concept and measurement. J. Clin. Immunoassay 7 , 163 , 1984.
8. Nieschlag E. and Wickings EJ. : Role of testosterone in evaluation of testicular function. Radioassay systems in Clinical endocrinology , G. Abraham , ed. New York , 169 , 1981

Fecha de la revisión : 2010-03-10



Free TESTOSTERONE-RIA-CT

Test radioimmunologico per la determinazione quantitativa di Testosterone libero nel siero o plasma umano

KIPI19000

USO DIAGNOSTICO IN VITRO

it

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, Belgium - Tel: +32 67 88 99 99 - Fax : +32 67 88 99 96

1. USO PREVISTO: Per la determinazione **IN VITRO** di livelli di Testosterone libero (FT) nell'irsutismo e nell'ipogonadismo.

Il testosterone libero si diffonde attraverso le membrane cellulari e si lega a specifiche proteine recettoriali (recettori androgeni); i complessi recettoriali del testosterone agiscono come modulatori di trascrizione nelle regioni di cis-regolazione di numerosi geni.

Un eccesso di androgeni nelle donne è causa di irsutismo e di segni di virilizzazione; il livello di testosterone nel siero deve essere determinato prima e dopo la stimolazione e la soppressione surrenale e ovarica per identificare l'origine dell'eccessiva produzione di ormone.

L'ipogonadismo primario e secondario negli uomini comporta l'ipoandrogenizzazione clinica correlata al grado di insufficienza gonadica nella produzione di testosterone. La determinazione del testosterone del siero unitamente alla determinazione di LH consente di valutare correttamente queste condizioni.

Per giungere alla effettiva diagnosi di anorchia è necessario differenziare la presente condizione dal criptorchidismo. In presenza di una stimolazione prolungata di hCG, i livelli di testosterone rimangono molto bassi in caso di anorchia effettiva, mentre i testicoli del criptorchide possono rispondere alla stimolazione.

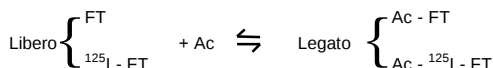
Le sindromi da resistenza agli androgeni, dovute ad insufficienze dei geni recettoriali per gli androgeni associati alla X, sono composte da diversi livelli di ambiguità sessuale. Qualunque sia la gravità delle anomalie fenotipiche, il testosterone del siero risulta sistematicamente elevato tenuto conto dei livelli sierici elevati di LH riscontrabili in queste condizioni.

I test per il testosterone includono le determinazioni del testosterone totale (diretto, per estrazione, provette rivestite) e del testosterone libero.

Il testosterone totale nel plasma comprende il testosterone libero ed il testosterone legato a SHBG, albumina, CBG. La percentuale media di ognuno negli uomini normali risulta, rispettivamente, pari a 2,7, 32, 65 e < 0,1.

I solventi rompono il legame proteico nei test per estrazione, mentre nei test diretti gli agenti bloccanti liberano il testosterone dalle proteine. Il vantaggio di un test per il testosterone libero consiste nel fatto che le concentrazioni di testosterone libero sono proporzionali al testosterone legato ai recettori negli organi.

2. PRINCIPIO DEL METODO: Il Testosterone libero (FT) RIA CT obbedisce alla legge dell'azione di massa conformemente alla seguente equazione :



Dal momento che le concentrazioni di ${}^{125}\text{I} - \text{FT}$ e di anticorpi rivestiti sono costanti, l'andamento dell'equazione dipende dalla concentrazione di FT. La quantità di ${}^{125}\text{I} - \text{FT}$ legata alla provetta rivestita è inversamente proporzionale alla concentrazione di FT presente nel campione.

Dopo l'incubazione, la provetta viene aspirata per rimuovere l'eccesso di T etichettato non legato.

La concentrazione del campione paziente viene letta da una curva di calibrazione.

3. MATERIALE IN DOTAZIONE E RELATIVA CONSERVAZIONE:

Se conservato a 2-8°C, il materiale potrà essere utilizzato fino alla data di scadenza impressa su ciascuna etichetta.

3.1.  2 x 48 provette in polipropilene (12 x 75 mm) rivestite con anticorpi policlonali anti-testosterone. Lasciare sempre che le provette rivestite si portino a temperatura ambiente prima di utilizzazione.

3.2.

Ag	125I
----	------

 giallo, 42 ml
1 flacone di TESTOSTERONE Libero analogo etichettato ${}^{125}\text{I}$ in in tampone proteico con un conservante ($\text{NaN}_3 < 0,1 \%$).
Ogni flacone contiene meno di 185 kBq (5 μCi)

3.3.

CAL	N
-----	---

 0,5 ml in ciascuna fiala - N = da 0 a 6
7 fiale di TESTOSTERONE LIBERO in siero umano contenenti conservante ($\text{NaN}_3 < 0,1 \%$).
Le concentrazioni sono stampate sulle etichette.

3.4.

CONTROL	N
---------	---

 0,5 ml in ciascuna fiala - N=1 o 2
2 fiale di siero umano contenenti conservante ($\text{NaN}_3 < 0,1 \%$). I sieri di controllo sono stati testati insieme ai campioni paziente. I range relativi ai sieri di controllo sono impressi sull'etichetta delle fiale.

3.5.

WASH	SOLN	CONC
------	------	------

 70 x concentrato, 10 ml
1 flacone di soluzione tamponata concentrata contenente sodio azide ($\text{NaN}_3 < 0,1 \%$). Versare la soluzione in 700 ml di acqua distillata.

4. MATERIALI RICHIESTI MA NON IN DOTAZIONE:

- superfici di banco protette con carta assorbente per ridurre gli effetti in caso di versamento di sostanze radioattive.
- contenitore per smaltimento dei rifiuti appositamente etichettato ed adatto ai materiali radioattivi solidi o liquidi.
- micropipette di precisione manuali o automatiche per l'erogazione di campioni o reagenti senza possibilità di contaminazione crociata.
- carta assorbente.
- pompa a vuoto per aspirazione collegata tramite un sifone intercettatore
- Bagnomaria
- Agitatore a stantuffo oppure orbitale (max. 350 giri al minuto).
- un contatore gamma a scintillazione
- carta millimetrata idonea per tracciare i grafici dei risultati.

5. METODOLOGIA:

5.1. Raccolta e manipolazione dei campioni di sangue:

Il campione di sangue può essere raccolto in una provetta asciutta.

Dopo la separazione dai globuli rossi, sarà possibile testare i campioni di siero immediatamente, nell'arco delle 24 ore se conservati a 2-8°C oppure dopo molti mesi se conservati a -20°C. È necessario evitare ripetuti congelamenti e scongelamenti.

5.2. Procedimento del test:

Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente i reagenti conservati a 2-8°C. Non miscelare reagenti provenienti da lotti diversi. Etichettare le provette dei calibratori T (« Conteggi totali » non utilizzare provette rivestite), campioni e controlli. I calibratori e i controlli devono essere mescolati prima dell'uso capovolgendoli oppure muovendoli vorticosamente piuttosto che agitandoli in vortex.

Eseguire il test in duplicato. Eseguire il test contemporaneamente a calibratori, controlli e campioni.

1. Curva di calibrazione:

Pipettare 50 μl di ciascun calibratore nelle provette corrispondenti.

2. Sieri di controllo e campioni:

Pipettare 50 μl di ciascun campione o del siero di controllo nelle provette corrispondenti.

3. Aggiungere a ciascuna provetta 400 μl di TESTOSTERONE ${}^{125}\text{I}$ tracciante analogo. Agitare in vortex e coprire.

4. Incubare per 2 ore a $37 \pm 2^\circ\text{C}$.

5. Aspirare con cautela o lasciare decantare (prima della decantazione, aggiungere a ogni provetta 2 ml di soluzione di lavaggio) la soluzione di tutte le provette. (eccetto le provette dei conteggi totali).

6. Aggiungere a ciascuna provetta 2 ml di soluzione di lavaggio. Aspirare o lasciare decantare con cautela.

7. Contare la radioattività fissata in ciascuna provetta per almeno 60 secondi (Cpm = Conta per minuto)

5.3. Elaborazione dei dati:

Determinare l'indice medio di conteggio relativo a ogni serie di provette in duplicato. Calcolare il rapporto B/B0 procedendo come segue:

$$B/B0 \% = [\text{Cpm Cal o Camp.} / \text{Cpm B0 (Cal 0)}] \times 100$$

Disegnare la curva di calibrazione su carta semilogaritmica tracciando il rapporto B/B0 % (scala lineare) ottenuto per ogni raffronto calibratore/rispettiva concentrazione, espresso in pg/ml (scala logaritmica). Le concentrazioni di

TESTOSTERONE LIBERO nei campioni possono essere lette direttamente dalla curva di calibrazione.

Se si utilizza un computer per calcolare i risultati, i dati potranno essere inseriti alla seguente equazione: spline smussata.

5.4. Esempio di test tipico:

	Contenuto (pg/ml)	1° cpm duplicato	2° cpm duplicato	Media indice conteggio	B/Bo (%)	Testosterone libero (pg/ml)
Conteggi totali	-	52039	51647	51843	-	-
Cal 0	0	25839	25961	25900	100	-
Cal 1	0,3	21086	21170	21128	81,6	-
Cal 2	1	46509	16203	16356	63,2	-
Cal 3	3	12437	12428	12433	48	-
Cal 4	10	8317	7916	8117	31,3	-
Cal 5	30	5017	4711	4864	18,8	-
Cal 6	90	2611	2528	2570	9,9	-
C 1 basso	1,5 – 2,9	13461	13557	13508	52,2	2,3
C 2 alto	15 – 29	5736	5002	5369	20,8	21
Campione 1		17478	16742	16975	65,5	0,86
Campione 2		7538	7423	7481	28,9	11,5
Campione 3		4681	4645	4663	24,3	33

Esempio di test tipico, da non utilizzare per i calcoli

6. CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE:

6.1. Specificità

Steroide	% Reattività crociata
Testosterone	100
5 α DHT	0.006
androstenedione	0.02
α estradiolo	0.0003
DHEA-S	0.000001
Androsterone, Corticosterone, 11 DOC, estradiolo, estrone, progesterone, DHEA	N.D.

6.2. Concentrazione minima rilevabile di TESTOSTERONE LIBERO:

La concentrazione minima rilevabile è stata testata a 0,13 pg/ml e corrisponde alla concentrazione ottenuta da due deviazioni standard inferiori al cpm medio delle 20 determinazioni replicate del calibratore zero.

6.3. Riproducibilità:

	Valore medio (pg/ml)	Variabilità intra saggio (%CV) 10 repliche	Variabilità inter saggio (%CV) 7 test separati in duplicato
Gruppo 1	0.73	11.4	18.07
Gruppo 2	10.89	5.7	6.72
Gruppo 3	33.94	9.3	8.46

7. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA:

7.1. Utilizzare e interpretare i risultati ottenuti con questo o con qualsiasi altro kit diagnostico esclusivamente nell'ambito di un quadro clinico generale.

7.2. Non utilizzare campioni lipemici, emolizzati, itterici o torbidi.

7.3. Non utilizzare campioni di plasma

8. VALORI ATTESI:

Si consiglia a ciascun laboratorio di stabilire i propri valori di riferimento.

gruppo età	Maschi (pg/ml)		Femmine (pg/ml)	
	Mediana	Intervallo *	Mediana	Intervallo *
<20	-	0,2 – 42,5	0,95	ND – 3,09
20 - 39	22	8,9 – 42,5	1	ND – 3,09
40 - 59	16,2	6,6 – 30,0	0,9	ND – 2,60
>60	11,9	4,9 – 21,6	0,7	ND – 1,80

* 95% percentili

9. AVVERTENZE E PRECAUZIONI:

Solo per uso DIAGNOSTICO IN VITRO

ATTENZIONE: Materiale radioattivo

Il kit contiene ¹²⁵I (emivita: 60 giorni) emettente raggi X (28 keV) e γ (35,5 keV) ionizzanti

L'acquisto, a detenzione, l'utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale. In nessun caso il prodotto può essere somministrato ad esseri umani o animali.

Usare sempre guanti e camici da laboratorio quando si manipola materiale radioattivo. Le sostanze radioattive devono essere conservate in propri contenitori in appositi locali che devono essere interdetti alle persone non autorizzate. Deve essere tenuto un registro di carico e scarico del materiale radioattivo. Il materiale di laboratorio e la vetreria deve essere dedicato all'uso di isotopi specifici per evitare cross-contaminazioni.

In caso di contaminazione o dispersione di materiale radioattivo, fare riferimento alle norme locali di radioprotezione. I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti secondo le norme locali di radioprotezione. Lo scrupoloso rispetto delle norme per l'uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori.

Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici. Non pipettare i reattivi con pipette a bocca.

AVVERTENZA: Sodio azide

Alcuni componenti contengono sodio azide come agente conservante (NaN_3 < 0,1%). Smaltire i reagenti attraverso il sistema idraulico risciacquando abbondantemente con acqua corrente.

AVVERTENZA: Materiali potenzialmente infettivi

Maneggiare tutti i componenti (e tutti i campioni paziente) alla stregua di sostanze in grado di trasmettere malattie quali epatite B e C e sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS).

Il materiale di origine ottenuto da liquidi corporei umani o da organi utilizzato per la preparazione del presente kit è stato testato ed è risultato, a seguito di test immunologico, negativo all'HbsAg e anti-HCV. Ciononostante nessun test noto è in grado di escludere completamente l'assenza da detti materiali di agenti in grado di provocare epatite virale.

Allo stesso modo tutti i materiali umani utilizzati nella preparazione del presente kit, sono stati analizzati, tramite test immunoenzimatico, per rilevare la presenza di anticorpi anti HIV 1 e HIV 2 e sono risultati negativi. Ciononostante, l'assenza di questo anticorpo non è in grado di garantire la completa assenza di agenti virali responsabili della sindrome da immunodeficienza acquisita.

10. BIBLIOGRAFIA:

- Abraham G., Manlinos F. and Garza R. : Handbook of radioimmunoassay . Abraham G.(eds) Marcel Dekker, Inc. New York. 599, 1977.
- Vermeulen A. : Androgen secretion by adrenals and gonads . in : Malesh V, Greenblatt RB, editors. Hirsutism and virilism . Boston : John Wright - PSG inc., 17 , 1983.
- Green PJ. : Free testosterone determination by ultrafiltration and comparison with dialysis .Clinical Chemistry , 28 , 1237 , 1982.
- Haning RV. : Testosterone free index correlates best with dehydroepiandrosterone sulfate Fertility and Sterility , 36 , 757 , 1981.
- Biffignandi P., Massucchi C., Molinatti GM. : Female hirsutism : pathophysiological consideration and therapeutic implications. Endocrine reviews , 5 , 498 , 1984.
- Manni A., Partridge WM., Cefalu W., Nisula BC. Bardin CW., Santner SJ., Santner RJ. : J. Clin. Endocrinol. Metab. 61 , 705 , 1985.
- Ekins RP : Free hormones in blood : concept and measurement. J. Clin. Immunoassay 7 , 163 , 1984.
- Nieschlag E. and Wickings EJ. : Role of testosterone in evaluation of testicular function. Radioassay systems in Clinical endocrinology , G. Abraham , ed. New York , 169 , 1981.

Data di revisione : 2010-03-10



Free TESTOSTERONE-RIA-CT

Ραδιοανοσοπροσδιορισμός για τον ποσοτικό προσδιορισμό της ελεύθερης τεστοστερόνης σε ανθρώπινο ορό

el

KIP19000

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, Belgium - Tel: +32 67 88 99 99 - Fax : +32 67 88 99 96

1. ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ:

Για *IN VITRO* προσδιορισμό των επιπέδων της ελεύθερης τεστοστερόνης (FT) σε περιπτώσεις δασυτριχισμού και υπογοναδισμού.

Η ελεύθερη τεστοστερόνη διαχέεται μέσω των κυτταρικών μεμβρανών και δεσμεύεται σε πρωτεΐνες ειδικών υποδοχέων (υποδοχείς ανδρογόνων). Τα σύμπλοκα τεστοστερόνης-υποδοχέων λειτουργούν ως ρυθμιστές μεταγραφής στις περιοχές ρύθμισης *cis* πολλών γονιδίων.

Υπερβολική ποσότητα ανδρογόνων στις γυναίκες προκαλεί δασυτριχισμό και σημεία αρρενοποίησης. Το επίπεδο της τεστοστερόνης στον ορό πρέπει να προσδιοριστεί πριν και μετά από τη διέγερση και την καταστολή των ωοθηκών και των επινεφριδίων για να εντοπιστεί η προέλευση της υπερβολικής παραγωγής της ορμόνης.

Ο πρωτοπαθής και δευτεροπαθής υπογοναδισμός στους άνδρες έχει ως συνέπεια την κλινική υποανδρογονογένεση, η οποία συσχετίζεται με το βαθμό ανεπαρκούς παραγωγής τεστοστερόνης από τις γονάδες. Ο προσδιορισμός των επιπέδων της τεστοστερόνης στον ορό μαζί με τον προσδιορισμό της LH επιτρέπει τη σωστή αξιολόγηση αυτών των καταστάσεων.

Η διάγνωση πραγματικής ανορχίας απαιτεί επίσης τη διάκριση αυτής της κατάστασης από την κρυπορχία. Υπό συνθήκες παρατεταμένης διέγερσης της hCG, στην πραγματική ανορχία τα επίπεδα της τεστοστερόνης παραμένουν πολύ χαμηλά, ενώ στην περίπτωση της κρυπορχίας οι όρχεις ενδέχεται να ανταποκριθούν στη διέγερση.

Τα σύνδρομα αντοχής στα ανδρογόνα, τα οποία οφείλονται σε ανεπάρκειες του X συνδεδεμένου γονιδίου υποδοχέων ανδρογόνων, έχουν να κάνουν με διάφορους βαθμούς σεξουαλικού διμορφισμού. Άσχετα από τη σοβαρότητα των φαινοτυπικών ανωμαλιών, σε αυτές τις καταστάσεις τα επίπεδα της τεστοστερόνης στον ορό είναι συστηματικά υψηλά ως προς τα αυξημένα επίπεδα της LH στον ορό.

Στους προσδιορισμούς τεστοστερόνης περιλαμβάνονται οι προσδιορισμοί ολικής τεστοστερόνης (άμεσο, με εκχύλιση, με επιστρωμένα σωληνάρια) και ελεύθερης τεστοστερόνης.

Η ολική τεστοστερόνη του πλάσματος περιλαμβάνει ελεύθερη τεστοστερόνη και τεστοστερόνη δεσμευμένη σε SHBG, λευκωματίνη και CBG. Στους φυσιολογικούς άνδρες, το μέσο ποσοστό επί τοις εκατό για κάθε μορφή είναι 2,7, 32, 65 και <0,1 αντίστοιχα.

Στους προσδιορισμούς με εκχύλιση διαλύτες διασπούν τη δέσμευση των πρωτεϊνών, ενώ στους άμεσους προσδιορισμούς ανασταλτικοί παράγοντες απελευθερώνουν την τεστοστερόνη από πρωτεΐνες. Το πλεονέκτημα ενός προσδιορισμού ελεύθερης τεστοστερόνης είναι ότι οι συγκεντρώσεις ελεύθερης τεστοστερόνης βρίσκονται σε ισορροπία με την τεστοστερόνη που είναι δεσμευμένη σε υποδοχείς των οργάνων.

2. ΒΑΣΙΚΗ ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ:

Ο προσδιορισμός ελεύθερης τεστοστερόνης (FT) CT RIA διέπεται από το νόμο δράσης της μάζας σύμφωνα με την ακόλουθη εξίσωση:

$$\text{Ελεύθερη} \left\{ \begin{matrix} \text{FT} \\ {}^{125}\text{I} - \text{FT} \end{matrix} \right. + \text{Ab} \rightleftharpoons \text{Δεσμευμένη} \left\{ \begin{matrix} \text{Ab} - \text{FT} \\ \text{Ab} - {}^{125}\text{I} - \text{FT} \end{matrix} \right.$$

Δεδομένου ότι οι συγκεντρώσεις της σημασμένης με ^{125}I ελεύθερης τεστοστερόνης και των επιστρωμένων αντισωμάτων είναι σταθερές, η κατάσταση προόδου της εξίσωσης εξαρτάται από τη συγκέντρωση της FT. Η ποσότητα της σημασμένης με ^{125}I ελεύθερης τεστοστερόνης που είναι δεσμευμένη στο επιστρωμένο σωληνάριο είναι αντιστρόφως ανάλογη προς τη συγκέντρωση της FT στο δείγμα.

Μετά από την επώαση, γίνεται αναρρόφηση στο σωληνάριο για να αφαιρεθεί η επιπλέον μη δεσμευμένη σημασμένη τεστοστερόνη.

Η ανάγνωση των συγκεντρώσεων των δειγμάτων των ασθενών γίνεται από μια καμπύλη βαθμονόμησης.

3. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΦΥΛΑΞΗ:

Όταν φυλάσσονται στους 2 - 8° C, τα υλικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται σε κάθε ετικέτα.

- 3.1.

Ag	125I
----	------

 2 x 48 σωληνάρια από πολυπροπυλένιο (12 x 75 mm), επιστρωμένα με πολυκλωνικά αντισώματα αντι-τεστοστερόνης.
Αφήνετε συστηματικά τα επιστρωμένα σωληνάρια να φθάνουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν τη χρήση.
- 3.2.

Ag	125I
----	------

 κίτρινο, 42 ml
1 φιάλη με σημασμένο ^{125}I ανάλογο Ελεύθερης Τεστοστερόνης σε ρυθμιστικό πρωτεϊνικό διάλυμα, το οποίο περιέχει < 0,1 % NaN₃ σαν συντηρητικό
Κάθε φιάλη περιέχει λιγότερο από 185 kBq (5 μCi).

- 3.3.

CAL	N
-----	---

 0,5 ml σε κάθε φιαλίδιο - N=0 έως 6
7 φιαλίδια ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΤΕΣΤΟΣΤΕΡΟΝΗΣ σε ανθρώπινο ορό που περιέχει συντηρητικό (NaN₃< 0,1 %).
Οι συγκεντρώσεις αναγράφονται στις ετικέτες.
- 3.4.

CONTROL	N
---------	---

 0,5 ml σε κάθε φιαλίδιο - N=1 ή 2
2 φιαλίδια ανθρώπινου ορού που περιέχει συντηρητικό (NaN₃< 0,1 %). Οι οροί ελέγχου πρέπει να υποβάλλονται σε προσδιορισμό μαζί με τα δείγματα των ασθενών. Τα πεδία τιμών για τους ορούς ελέγχου αναγράφονται στις ετικέτες των φιαλιδίων.
- 3.5.

WASH	SOLN	CONC
------	------	------

 συμπτυκνωμένο 70x, 10 ml
1 φιαλίδιο (10 ml) ρυθμιστικού διαλύματος με συντηρητικό: NaN₃ (<0,1%). Αραιώστε το περιεχόμενο του φιαλιδίου με αποσταγμένο νερό μέχρι τα 700 ml (τελικός όγκος).

4. ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ:

- Επιφάνειες πάγκου προστατευμένες με απορροφητικό χαρτί για να μειωθούν οι επιπτώσεις από πιπίλισματα ραδιενεργού υλικού.
- Δοχεία απόρριψης αποβλήτων σημασμένα όπως πρέπει και κατάλληλα για στερεά ή υγρά ραδιενεργά υλικά.
- Μη αυτόματες ή αυτοματοποιημένες μικροπιπέτες ακριβείας για τη διανομή των δειγμάτων ή των αντιδραστηρίων χωρίς κίνδυνο επιμόλυνσης.
- Απορροφητικό χαρτί.
- Αντλία κενού συνδεδεμένη μέσω σιφονιού, για αναρρόφηση
- Επωαστήρας στους 37° C
- Παλινδρομικής ή τροχιακής κίνησης αναδευτήρας (μέγ. 350 rpm).
- Απαριθμητής σπινθηρισμών γ ακτινοβολίας.
- Χαρτί γραφημάτων κατάλληλο για την αποτύπωση των αποτελεσμάτων.

5. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ:

- 5.1. Συλλογή και χειρισμός των δειγμάτων αίματος:
Το δείγμα αίματος μπορεί να συλλεχθεί σε ένα στεγνό σωληνάριο.
Μετά από διαχωρισμό από τα ερυθρά αιμοσφαίρια, τα δείγματα ορού μπορούν να υποβάλλονται σε προσδιορισμό αμέσως, εντός 24 ωρών, αν φυλάσσονται στους 2 - 8° C, ή αργότερα, μετά από μια περίοδο έως και αρκετών μηνών, αν φυλάσσονται στους -20° C. Πρέπει να αποφεύγεται η επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη.

5.2. Διαδικασία του προσδιορισμού :

Τα αντιδραστήρια που φυλάσσονται στους 2° - 8° C πρέπει να φθάσουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Δεν πρέπει να αναμειγνύετε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες. Σημάνετε τα σωληνάρια για T («Total») [μετρήσεις του ιχνηθέτη], μη χρησιμοποιείτε επιστρωμένα σωληνάρια), τους βαθμονομητές, τα δείγματα και τους ορούς ελέγχου. Οι βαθμονομητές και οι οροί ελέγχου πρέπει να αναμειγνύονται πριν από τη χρήση με αναστροφή ή με ανάδευση και όχι με στροβιλισμό.

Εκτελέστε τον προσδιορισμό εις διπλούν. Οι βαθμονομητές, οι οροί ελέγχου και τα δείγματα πρέπει να υποβάλλονται σε προσδιορισμό ταυτόχρονα.

1. Καμπύλη βαθμονόμησης:
Διανείμετε με πιπέτα 50 μl από κάθε βαθμονομητή στα αντίστοιχα σωληνάρια.
2. Δείγματα και οροί ελέγχου:
Διανείμετε με πιπέτα 50 μl από κάθε δείγμα ή ορό ελέγχου στα αντίστοιχα σωληνάρια.
3. Προσθέστε 400μl ιχνηθετημένο με ^{125}I ανάλογο της Τεστοστερόνης σε κάθε σωληνάριο. Ανακινήστε και καλύψτε.
4. Επώαστε επί 2 ώρες στους 37± 2°C
5. Αναρροφήστε προσεκτικά ή μεταγγίστε (πριν από τη μετάγγιση προσθέστε 2 ml από το διάλυμα πλύσης σε κάθε σωληνάριο) το διάλυμα όλων των σωληναρίων. (Εκτός από τα σωληνάρια που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ["total"])
6. Προσθέστε 2 ml από το διάλυμα πλύσης σε κάθε σωληνάριο. Αναρροφήστε ή μεταγγίστε προσεκτικά.
7. Μετρήστε τη δεσμευμένη σε κάθε σωληνάριο ραδιενέργεια επί τουλάχιστον 60 δευτερόλεπτα.

5.3. Επεξεργασία δεδομένων:

Προσδιορίστε τη μέση τιμή κρούσεων για κάθε σετ διπλών σωληναρίων.
Υπολογίστε το λόγο B/B0 ως ακολούθως:

$$B/B0 \% = \left[\frac{\text{Πρότυπο διάλυμα ή crm δείγματος}}{\text{B0 (Πρότυπο διάλυμα 0) crm}} \right] \times 100$$

Σχεδιάστε την καμπύλη βαθμονόμησης σε ημιλογαριθμικό χαρτί αποτυπώνοντας το λόγο B/B0 % (γραμμική κλίμακα) που έχει ληφθεί για κάθε βαθμονομητή έναντι της αντίστοιχης του συγκέντρωσης, εκφρασμένης σε pg/ml (λογαριθμική κλίμακα). Οι συγκεντρώσεις ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΤΕΣΤΟΣΤΕΡΟΝΗΣ σε δείγματα είναι δυνατόν να αναγνωστούν απευθείας από τη καμπύλη βαθμονόμησης.

Αν χρησιμοποιείται ηλεκτρονικός υπολογιστής για τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων, τα δεδομένα είναι δυνατόν να προσαρμοστούν στην κατάλληλη εξίσωση: ομαλοποιημένη καμπύλη spline.

5.4. Παράδειγμα ενός τυπικού προσδιορισμού:

	Περιεχόμενα (pg/ml)	1 ^ο crm επανάληψη	2 ^ο crm επανάληψη	Μέση τιμή μέτρησης	B/B0 (%)	Ελεύθερη τεστοστερόνη (pg/ml)
Μετρήσεις του χηνητέτη ("total")	-	52039	51647	51843	-	-
Πρότυπο διάλυμα 0	0	25839	25961	25900	100	-
Πρότυπο διάλυμα 1	0,3	21086	21170	21128	81,6	-
Πρότυπο διάλυμα 2	1	46509	16203	16356	63,2	-
Πρότυπο διάλυμα 3	3	12437	12428	12433	48	-
Πρότυπο διάλυμα 4	10	8317	7916	8117	31,3	-
Πρότυπο διάλυμα 5	30	5017	4711	4864	18,8	-
Πρότυπο διάλυμα 6	90	2611	2528	2570	9,9	-
Βαθμονομητής 1 χαμηλής τιμής	1,5 – 2,9	13461	13557	13508	52,2	2,3
Βαθμονομητής 2 υψηλής τιμής	15 – 29	5736	5002	5369	20,8	21
Δείγμα 1		17478	16742	16975	65,5	0,86
Δείγμα 2		7538	7423	7481	28,9	11,5
Δείγμα 3		4681	4645	4663	24,3	33

Παράδειγμα ενός τυπικού προσδιορισμού (να μη χρησιμοποιηθεί για υπολογισμούς)

6. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ:

6.1. Ειδικότητα

Στεροειδές	% Διασταυρούμενη αντιδραστικότητα
Τεστοστερόνη	100
5 α DHT	0,006
Ανδροστενεδιόνη	0,02
β οιστραδιόλη	0,0003
DHEA-S	0.000001
Ανδροστερόνη, κορτικοστερόνη, 11 DOC, οιστριόλη, οιστρόνη, προγεστερόνη, DHEA	Μη ανιχν.

6.2. Ελάχιστη ανιχνεύσιμη συγκέντρωση ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΤΕΣΤΟΣΤΕΡΟΝΗΣ:

Η ελάχιστη ανιχνεύσιμη συγκέντρωση έχει προσδιοριστεί στα 0,13 pg/ml και αντιστοιχεί στη συγκέντρωση που παρέχεται από δύο τυπικές αποκλίσεις κάτω από το μέσο crm 20 επαναλαμβανόμενων προσδιορισμών του μηδενικού βαθμονομητή.

6.3. Αναπαραγωγιμότητα:

	Μέση τιμή (pg/ml)	Διακύμανση στα πλαίσια του ίδιου προσδιορισμού (% ΣΔ) 10 επαναλήψεων	Διακύμανση μεταξύ διαφορετικών προσδιορισμών (% ΣΔ) 7 διαφορετικών προσδιορισμών εις διπλούν
Μείγμα 1	0.73	11.4	18.07
Μείγμα 2	10.89	5.7	6.72
Μείγμα 3	33.94	9.3	8.46

7. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ:

- 7.1. Τα αποτελέσματα που λαμβάνονται από το παρόν ή οποιοδήποτε άλλο διαγνωστικό kit θα πρέπει να χρησιμοποιούνται και να ερμηνεύονται μόνο στο πλαίσιο μιας γενικότερης κλινικής εικόνας.
- 7.2. Μην χρησιμοποιείτε λιπαιμικά, αιμολυμένα, ικτερικά ή θολά δείγματα.
- 7.3. Μην χρησιμοποιείτε δείγματα πλάσματος.

8. ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ:

Συνιστάται κάθε εργαστήριο να καθιερώσει τις δικές του τιμές αναφοράς.

ηλικιακή ομάδα	Άνδρες (pg/ml)		Γυναίκες (pg/ml)	
	Διάμεσος	Πεδίο τιμών *	Διάμεσος	Πεδίο τιμών *
<20	-	0,2 – 42,5	0,95	ND – 3,09
20 - 39	22	8,9 – 42,5	1	ND – 3,09
40 - 59	16,2	6,6 – 30,0	0,9	ND – 2,60
>60	11,9	4,9 – 21,6	0,7	ND – 1,80

* 95% Εκατοστημίοιο

9. ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ:

Μόνο για IN VITRO ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ χρήση

ΠΡΟΣΟΧΗ: Ραδιενεργό υλικό

Το kit αυτό περιέχει το ¹²⁵I (Χρόνος ημιζωής: 60 ημέρες), μια ραδιενεργή ουσία η οποία εκπέμπει ιονίζουσα ακτινοβολία Χ (28 keV) και γ (35,5 keV).

Αυτό το ραδιενεργό προϊόν είναι δυνατό να μεταφερθεί και να χρησιμοποιηθεί μόνο από εξουσιοδοτημένα άτομα. Η αγορά, φύλαξη, χρήση και ανταλλαγή ραδιενεργών προϊόντων υπόκειται στη νομοθεσία της χώρας του τελικού χρήστη. Σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να χορηγείται το προϊόν σε ανθρώπους ή ζώα.

Όλος ο χειρισμός του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να εκτελείται σε καθορισμένο χώρο, μακριά από χώρους τακτικής διέλευσης. Στο εργαστήριο πρέπει να διατηρείται ημερολόγιο για την παραλαβή και τη φύλαξη ραδιενεργών υλικών. Εξοπλισμός και γυάλινα σκεύη του εργαστηρίου, τα οποία θα μπορούσαν να μολυνθούν με ραδιενεργές ουσίες, θα πρέπει να φυλάσσονται σε ξεχωριστό χώρο για την πρόληψη επιμόλυνσης των διαφόρων ραδιοϊσοτόπων. Τυχόν διαρροές ραδιενεργών υγρών πρέπει να καθαρίζονται αμέσως σύμφωνα με τις διαδικασίες ασφαλείας από ραδιενέργεια. Τα ραδιενεργά απόβλητα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς και τις κατευθυντήριες οδηγίες των αρχών που έχουν δικαιοδοσία στο εργαστήριο. Η τήρηση των βασικών κανόνων ασφαλείας από ραδιενέργεια παρέχει επαρκή προστασία.

Μην καπνίζετε, μην πίνετε, μην τρώτε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά στο χώρο εργασίας. Μην διανέμετε με πιπέτα χρησιμοποιώντας το στόμα σας. Χρησιμοποιείτε προστατευτικό ρουχισμό και αναλώσιμα γάντια.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Αζίδιο του νατρίου

Μερικά στοιχεία περιέχουν αζίδιο του νατρίου ως παράγοντα συντήρησης (NaN₃ < 0,1%). Απορρίψτε τα αντιδραστήρια ξεπλένοντας με άφθονο νερό μέσω του συστήματος της αποχέτευσης.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Δυνητικός μολυσματικό υλικό

Να χειρίζεστε όλα τα στοιχεία (και όλα τα δείγματα των ασθενών) σαν να πρόκειται για ουσίες που δυνητικώς μπορεί να μεταδώσουν ιογενείς νόσους, όπως η ηπατίτιδα Α και Β και το σύνδρομο επίκτητης ανοσοποιητικής ανεπάρκειας (AIDS).

Το αρχικό υλικό, το οποίο προήλθε από σωματικά υγρά ή όργανα και έχει χρησιμοποιηθεί στην παρασκευή του παρόντος kit έχει ελεγχθεί και έχει διαπιστωθεί ότι είναι αρνητικό ως προς την παρουσία HBsAg και αντι-HCV μέσω ανοσοπροσδιορισμού. Ωστόσο, καμία γνωστή μέθοδος δεν είναι δυνατό να διασφαλίσει σε απόλυτο βαθμό ότι τέτοιοι ειδούς υλικά δεν περιέχουν τον αιτιολογικό παράγοντα της ιογενούς ηπατίτιδας.

Παρομοίως, όλα τα υλικά ανθρώπινης προέλευσης που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή του παρόντος kit ελέγχθηκαν για την παρουσία αντισωμάτων έναντι του HIV-1 και -2 μέσω ενζυμικού ανοσοπροσδιορισμού και τα αποτελέσματα ήταν αρνητικά. Ωστόσο, η απουσία του αντισώματος αυτού δεν εγγυάται την απουσία του ιογενούς παράγοντα που ευθύνεται για το σύνδρομο της επίκτητης ανοσοποιητικής ανεπάρκειας.

10. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:

1. Abraham G., Manlinos F. and Garza R. : Handbook of radioimmunoassay . Abraham G.(eds) Marcel Dekker, Inc. New York. 599, 1977
2. Vermeulen A. : Androgen secretion by adrenals and gonads . in : Malesh V, Greenblatt RB, editors. Hirsutism and virilism . Boston : John Wright - PSG inc., 17 , 1983
3. Green PJ. : Free testosterone determination by ultrafiltration and comparison with dialysis .Clinical Chemistry , 28 , 1237 , 1982
4. Haning RV. : Testosterone free index correlates best with dehydroepiandrosterone sulfate Fertility and Sterility , 36 , 757 , 1981
5. Biffignandi P., Massucchetti C., Molinatti GM. : Female hirsutism : pathophysiological consideration and therapeutic implications. Endocrine reviews , 5 , 498 , 1984.
6. Manni A., Partridge WM., Cefalu W., Nisula BC. Bardin CW., Santner SJ., Santen RJ. : J. Clin. Endocrinol. Metab. 61, 705 , 1985.
7. Ekins RP : Free hormones in blood : concept and measurement. J. Clin. Immunoassay 7 , 163 , 1984.
8. Nieschlag E. and Wicking E.J. : Role of testosterone in evaluation of testicular function. Radioassay systems in Clinical endocrinology , G. Abraham , ed. New York , 169 , 1981

ημερομηνία αναθεώρησης : 2010-03-10



Free TESTOSTERONE-RIA-CT

Radioimmun vizsgálat emberi vérsavó szabad tesztoszteron-tartalmának mennyiségi meghatározására
KIPI19000

Hu

IN VITRO DIAGNOSZTIKAI FELHASZNÁLÁSRA

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, Belgium - Tel: +32 67 88 99 99 – Fax: +32 67 88 99 96

1. A VIZSGÁLAT CÉLJA:

a szabad tesztoszteron (FT, free testosterone) mennyiségének *in vitro* meghatározása hirsutismus és hypogonadismus esetén.

A szabad tesztoszteron átdiffundál a sejtek membránján és specifikus receptor-fehéjékhez (androgén receptorok) kötődik; a kialakult tesztoszteron-receptor komplexek számos gén cisz-regulációs régiójában kifejtik hatásukat: transzkripció szabályozóanyagként működnek.

Nőkben az androgén-többlet hirsutismushoz és virilizációhoz vezet. A tesztoszteron szintjét a petefészkek és a mellékvesék stimulációja és szuppressziója előtt és után is meg kell határozni, hogy azonosítható legyen a túlzott hormontermelés forrása.

Az elsődleges és másodlagos hypogonadismus férfiakban csökkent androgenizációval jár, aminek súlyossága attól függ, milyen mértékű a nemi szervek tesztoszteron-termelésének alulműködése. A vérsavó tesztoszteron és LH szintjének együttes meghatározása lehetővé teszi az elváltozás mértékének helyes becslését.

A valódi anorchia diagnózisának felállításához szükség van a betegség elkülönítésére a rejtett heréjűségtől. Valódi anorchia esetén a tesztoszteron-koncentráció hosszas hCG stimuláció után is nagyon alacsony marad, míg a cryptorchid herék reagálnak a kezelésre.

Az androgén rezisztencia szindrómák X-kromoszómához kötötten öröklődnek, és az androgén receptorok genetikai hibája váltja ki őket. Ezek során eltérő mértékű interszexualitás alakulhat ki. Azonban bármilyen súlyos is a fenotípusos eltérés, ezekben az esetekben a vérben a tesztoszteron szintje az emelkedett LH-koncentráció hatására magas szokott lenni.

A tesztoszteron-vizsgálatok a teljes (közvetlen, extrakciós, illetve ellenanyaggal borított csöveket alkalmazó eljárások) vagy a szabad tesztoszteron mennyiségét határozzák meg.

A plazmában található teljes tesztoszteron a szabad, valamint az SHBG-hez (sex hormone-binding globulin, nemi hormon kötő globulin), albuminhoz és CBG-hez (corticosteroid binding globulin, kortikoszteroid-kötő globulin) kötött tesztoszteronból áll. Egészséges férfiakban ezek átlagos százalékos értékei 2.7, 32, 65 és <0.1.

Az extrakciós vizsgálatok során használt oldószerek felbontják ezt a kötést, a közvetlen eljárások esetében pedig a blokkoló reagensek szabadítják fel a tesztoszteront a fehérjékről. A szabad tesztoszteron meghatározására szolgáló módszerek azt használják ki, hogy a szabad és a receptorokhoz kötött tesztoszteron koncentrációja a szervezetben egyensúlyban van egymással.

2. A VIZSGÁLAT ELVE:

A szabad tesztoszteron (FT) CT RIA során a tömeghatás törvénye érvényesül a következő egyenlet alapján:

$$\text{Szabad } \left\{ \begin{array}{l} \text{FT} \\ |^{125} - \text{FT} \end{array} \right. + \text{Ab} \rightleftharpoons \text{Kötött } \left\{ \begin{array}{l} \text{Ab} - \text{FT} \\ \text{Ab} - |^{125} - \text{FT} \end{array} \right.$$

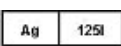
Mivel a jódizotóppal jelölt ($|^{125} - \text{FT}$) és a felszínhez rögzített ellenanyagok (Ab) koncentrációja állandó, az egyensúly jobbra tolódása a csak szabad tesztoszteron koncentrációjától függ. Az ellenanyaggal borított csövek falához kötődött $|^{125} - \text{FT}$ mennyisége fordítottan arányos a minta szabad tesztoszteron-koncentrációjával.

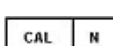
Az inkubáció után a csövek tartalmát le kell szívni, hogy eltávozzon a nem kötődött jelölt tesztoszteron. A minták tesztoszteron-koncentrációja a kalibrációs görbéről olvasható le.

3. REAGENSEK ÉS TÁROLÁSUK:

2 - 8°C-on tárolva a reagensek a címkéjükön feltüntetett lejárati idejükig eltarthatók.

3.1.  2 x 48 poliszitirén cső (12 x 75 mm), poliklonális anti-tesztoszteron ellenanyagokkal borítva. Használat előtt várja meg, amíg a csövek szobahőmérsékletre melegednek.

3.2.  sárga, 42 ml 1 flakon $|^{125} - \text{I}$ -dal jelölt szabad tesztoszteron analóg fehérje alapú pufferben, ami tartósítószerként < 0,1 % NaN_3 -ot tartalmaz. Flakononként < 185 Kbp (5 μCi).

3.3.  0,5 ml ampullánként - N=0 - 6 7 ampulla szabad tesztoszteron emberi vérsavóban, tartósítószerrel tartalmaz (NaN_3 < 0,1%). A koncentrációkat lásd a címkéken.

3.4.  0,5 ml ampullánként - N=1 vagy 2 2 ampulla tartósítószerrel (NaN_3 < 0,1%) tartalmazó emberi vérsavó. A kontrollsavókat a betegek mintáival együtt kell megvizsgálni. A kontrollok elfogadható tartományait lásd a címkéken.

3.5.  70 x koncentrát, 10 ml 1 flakon tömény puffer, nátrium-azidot tartalmaz (NaN_3 < 0,1%). Öntse az oldatot 700 ml desztillált vízhez.

4. A VIZSGÁLATHOZ SZÜKSÉGES TOVÁBBI ESZKÖZÖK:

- Nedvszívó papírral borított munkafelületek, a káros hatások csökkentésére radioaktív anyagok kiömlése esetén.
- Folyékony és szilárd radioaktív anyagok gyűjtésére alkalmas kidobóedények, megfelelően feliratozva.
- Kézi vagy automata precíziós mikropipetták a minták és reagensek keresztszennyeződés-mentes beméréséhez.
- Nedvszívó papír.
- Szűrővel ellátott vízlégszivattyú a felülúszó eltávolításához.
- Vízfürdő.
- Gamma-sugázmérő
- Megfelelő milliméterpapír az eredmények ábrázolására.

5. A MÓDSZER

5.1. Vérminták levétele és tárolása :

A vérmintát natív csőbe kell levenni.

A vörösvérsejtektől történt elválasztás után a savó vizsgálata akár azonnal is elvégezhető, vagy a levételt követően 24 órán belül, ha a mintát a 2-8°C-on tárolja. A vizsgálatot hónapokkal később is elvégezheti, ez esetben a savót fagyassza le -20°C-ra. Kerülje a minta többszöri lefagyasztását és felolvasztását.

5.2. A vizsgálat menete :

Használat előtt várja meg, amíg a 2-8°C-on tárolt reagensek felmelegednek szobahőmérsékletre. Ne keverje az eltérő gyártási számú reagenseket. Feliratozzon csöveket a teljes radioaktivitás mérésére (T, mint „totál”, ezekhez ne ellenanyaggal borított csöveket használjon), valamint a kalibrátorok, a minták és a kontrollok számára. A kalibrátorokat és kontrollokat használat előtt keverje meg, de ne vortexeléssel, hanem a csövek forgatásával, illetve körkörös mozgatásával.

Mindig két párhuzamos vizsgálatot végezzen. A kalibrátorokat, kontrollokat és mintákat egyidejűleg kell vizsgálni.

1. Kalibrációs görbe : Mérjen 50 μl -t minden kalibrátorból a megfelelő csövekbe.
2. Minták és kontroll savók : Mérjen 50 μl -t minden mintából és kontrollból a megfelelő csövekbe.
3. Pipettázzon 400 μl $|^{125} - \text{I}$ – tesztoszteron analóg tracer minden csőbe. Vortexelje és fedje be a csöveket.
4. Inkubálja őket 2 órán át 37 $\pm$ 2°C-on.
5. Óvatosan szívja ki vagy öntse le (leöntés előtt tegyen minden csőbe 2 ml mosóoldatot) a folyadékot a csövekből. (A totálokat kivéve).
6. Mérjen 2 ml mosóoldatot minden csőbe. Óvatosan szívja ki vagy öntse le a folyadékot a csövekből.
7. Mérje a radioaktivitást minden csőben legalább 60 másodpercen keresztül.

5.3. Eredmények értékelése :

Határozza meg a párhuzamos mérések átlagos radioaktivitás értékét. Számítsa ki a B/Bo értékeket a következők szerint:

$$B/Bo \% = [\text{Kalibrátor vagy minta } \overline{\text{cpm}} / Bo \text{ (Kalibrátor 0) } \overline{\text{cpm}}] \times 100$$

Rajzolja fel a kalibrációs görbét féllogaritmikus grafikonon úgy, hogy a kalibrátorok B/Bo % értékeit a lineáris, a hozzájuk tartozó koncentrációkat (pg/ml) pedig a logaritmikus skálán ábrázolja. A minták szabad tesztoszteron-koncentrációi közvetlenül leolvashatók a kalibrációs görbéről. Ha az eredményeket számítógép segítségével értékeli, a mért adatok behelyettesíthetők a megfelelő egyenletbe: simított spline.

5.4. Példa jellemző vizsgálati eredményekre:

	Koncentráció (pg/ml)	cpm 1. mérés	cpm 2. mérés	Átlag cpm	B/Bo (%)	Szabad Tesztoszteron (pg/ml)
Totál	-	52039	51647	51843	-	-
Kal 0	0	25839	25961	25900	100	-
Kal 1	0,3	21086	21170	21128	81,6	-
Kal 2	1	46509	46203	46356	63,2	-
Kal 3	3	12437	12428	12433	48	-
Kal 4	10	8317	7916	8117	31,3	-
Kal 5	30	5017	4711	4864	18,8	-
Kal 6	90	2611	2528	2570	9,9	-
C1 alacsony	1,5 – 2,9	13461	13557	13508	52,2	2,3
C2 magas	15 – 29	5736	5002	5369	20,8	21
Minta 1		17478	16742	16975	65,5	0,86
Minta 2		7538	7423	7481	28,9	11,5
Minta 3		4681	4645	4663	24,3	33

Ezek az adatok csak példaként szolgálnak, ne használja őket számításaihoz

6. MINŐSÉGI JELLEMZŐK:

6.1. Specificitás:

Szteroid	% Keresztreaktivitás
Tesztoszteron	100
5αDHT	0,006
Andosztenedion	0,02
B-ösztadiol	0,0003
DHEA-S	0,000001
Androszteron, kortikoszteron, 11-DOC, ösztrol, ösztrolon, progeszteron, DHEA	N.D.

6.2. A kimutathatóság alsó határa:

Vizsgálatok szerint a legalacsonyabb kimutatható koncentráció 0.13 pg/ml. Ez megegyezik azzal a koncentráció értékkel, ami a 0-kalibrátor húsz vizsgálatának átlagából számolható a standard deviáció kétszeresének levonásával.

6.3. Reprodukálhatóság:

	Átlag (pg/ml)	Vizsgálaton belüli variáció (% CV) 10 párhuzamos	Vizsgálatok közötti variáció (% CV) 7 független vizsgálat, 2-2 párhuzamossal
Pool 1	0,73	11,4	18,07
Pool 2	10,89	5,7	6,72
Pool 3	33,94	9,3	8,46

7. AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI

7.1. Az ezzel, vagy bármely más diagnosztikus célú reagenskészlettel kapott adatok csak a beteg más klinikai eredményeit is figyelembe véve értékelhetők és használhatók fel.

7.2. Ne használjon lipaemiás, haemolizált, icterusos, vagy zavaros mintákat.

7.3. Ne használjon plazma mintákat.

8. VÁRT ÉRTÉKEK

Ajánlott minden laboratóriumnak meghatározni saját referencia-tartományát.

Korcsoport	Férfiak (pg/ml)		Nők (pg/ml)	
	Medián	Tartomány*	Medián	Tartomány*
<20	-	0,2 – 42,5	0,95	ND – 3,09
20 - 39	22	8,9 – 42,5	1	ND – 3,09
40 - 59	16,2	6,6 – 30,0	0,9	ND – 2,60
>60	11,9	4,9 – 21,6	0,7	ND – 1,80

* 95% percentilis

9. MUNKAVÉDELMI SZABÁLYOK

Csak IN VITRO DIAGNOSZTIKAI felhasználásra

FIGYELEM: Radioaktív anyag

A kit röntgen (28 keV) és gamma (35,5 keV) sugárzó 125I izotópot (felezési idő: 60 nap) tartalmaz.

A reagenskészletben található radioaktív anyagot csak arra jogosult személyek vehetik át és használhatják fel. Radioaktív termékek beszerzésére, tárolására, használatára, és cseréjére az adott ország törvényei érvényesek. A reagensek alkalmazása embereken és állatokon is minden körülmények között tilos.

Minden, radioaktív reagenssel végzett műveletet egy arra kijelölt, elkülönített helyen kell elvégezni. A laboratóriumba érkezett radioaktív anyagok átvételéről és tárolásáról vezetett jegyzőkönyvet a laboratórium területén kell tartani. Azokat a laboratóriumi eszközöket és üvegedényeket, amelyek radioaktív anyaggal szennyeződtek, különítse el, hogy elkerülje a különböző radioizotópokkal történő keresztszennyeződést.

Amennyiben bármilyen radioaktív anyag kiömlik, azonnal takarítsa fel az erre vonatkozó előírásoknak megfelelő módon. A keletkező radioaktív hulladékot a helyi szabályoknak és az illetékes hatóságok erre vonatkozó útmutatásának megfelelően kell kidobni. Ha betartja a radioaktív anyagok kezelésére vonatkozó alapvető szabályokat, megfelelően védett lesz a sugárterheléstől.

Ne dohányozzon, ne fogyasszon ételt vagy italt, illetve ne használjon kozmetikumokat a laboratóriumban. Ne pipettázzon szájjal. Munka közben viseljen laborköpenyt és egyszer használatos kesztyűt.

VIGYÁZAT: Nátrium-azid

A készlet egyes reagensei nátrium-azidot tartalmaznak tartósítószerként (NaN3 < 0,1%). Ezeket a reagenzeket a csapba nagy mennyiségű vízzel együtt öntse ki.

VIGYÁZAT: Potenciálisan fertőzésveszélyes anyagok

Kezeljen minden reagenst (és betegmintát) potenciálisan hepatitis B, hepatitis C, illetve HIV vírussal fertőzőtként.

A reagenskészlet előállításához használt emberi testfolyadékokból és szervekből nyert anyagokat szerológiai módszerrel megvizsgálták, és negatívnak találták HbsAg-re, és anti-HCV ellenanyagokra. Azonban egyetlen ismert vizsgálat alapján sem állítható teljesen biztosan, hogy az ezek az anyagok nem tartalmazhatnak virális hepatitiszt okozó kórokozókat.

A reagenskészlet előállításához használt emberi eredetű anyagokat szerológiai eljárással HIV-1 és 2 ellen termelt ellenanyagokra is megvizsgálták, és negatívnak találták. Ezen ellenanyagok hiánya azonban nem zárja ki az AIDS kórokozójának jelenlétét.

10. IRODALOM

- Abraham G., Manlinos F. and Garza R. : Handbook of radioimmunoassay . Abraham G.(eds) Marcel Dekker, Inc. New York. 599, 1977
- Vermeulen A. : Androgen secretion by adrenals and gonads . in : Malesh V, Greenblatt RB, editors. Hirsutism and virilism . Boston : John Wright - PSG inc., 17 , 1983
- Green P.J. : Free testosterone determination by ultrafiltration and comparison with dialysis. Clinical Chemistry , 28 , 1237 , 1982
- Hanin R.V. : Testosterone free index correlates best with dehydroepiandrosterone sulfate Fertility and Sterility , 36 , 757 , 1981
- Biffignandi P., Massucchi C., Molinatti G.M. : Female hirsutism : pathophysiological consideration and therapeutic implications. Endocrine reviews , 5 , 498 , 1984.
- Manni A., Partridge W.M., Cefalu W., Nisula B.C. Bardin C.W., Santner S.J., Santner R.J. : J. Clin. Endocrinol. Metab. 61 , 705 , 1985.
- Ekins R.P. : Free hormones in blood : concept and measurement. J. Clin. Immunoassay 7 , 163 , 1984.
- Nieschlag E. and Wickings E.J. : Role of testosterone in evaluation of testicular function. Radioassay systems in Clinical endocrinology , G. Abraham , ed. New York , 169 , 1981

Frissítés időpontja : 2010-03-10



Free TESTOSTERONE-RIA-CT

Oznaczenie radioimmunoenzymatyczne do ilościowego określania poziomu wolnego testosteronu w surowicy ludzkiej

KIPI19000

DO DIAGNOSTYKI IN VITRO

pl

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, Belgia – Tel.: +32 67 88 99 99 - Fax: +32 67 88 99 96

1. PRZEZNACZENIE: Do oznaczania poziomów wolnego testosteronu (Free Testosteron (FT)) metodą *in vitro* w diagnostyce hirsutyzmu i hipogonadyzmu.

Wolny testosteron przenika przez błony komórkowe i wiąże się ze swoistymi białkami receptorowymi (receptorami androgenów); Kompleksy testosteron-receptor są modulatorami transkrypcji obszarów cis-regulatorowych wielu genów.

Nadmiar androgenów u kobiet prowadzi do hirsutyzmu i występowania objawów wirylicacji. Aby określić źródło nadmiernego wytwarzania testosteronu, poziom hormonu w surowicy powinien być oznaczany przed i po stymulacji jajników i nadnerczy oraz w testach hamowania.

Hipogonadyzm pierwotny i wtórny u mężczyzn prowadzi do klinicznych objawów androgenowego, związanego z chromosomem X, związane są z różnym stopniem obojętności płciowego. Niezależnie od stopnia ciężkości anomalii fenotypowych, poziom testosteronu w surowicy w takich stanach jest zawsze wysoki ze względu na podwyższone wartości LH w surowicy.

Diagnostyka anorchii prawdziwej wymaga zróżnicowania tej choroby od wnętrza. W anorchii prawdziwej, w warunkach wydłużonej stymulacji hCG poziomy testosteronu pozostają bardzo niskie, podczas gdy jądra pacjenta z wnętrzem odpowiadają na stymulację.

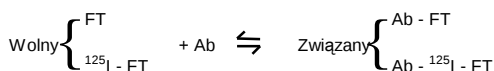
Zespoły oporności na androgeny, wynikające np. z niedoborów genu receptora androgenowego, związanego z chromosomem X, związane są z różnym stopniem obojętności płciowego. Niezależnie od stopnia ciężkości anomalii fenotypowych, poziom testosteronu w surowicy w takich stanach jest zawsze wysoki ze względu na podwyższone wartości LH w surowicy.

Oznaczenia testosteronu polegają na badaniu testosteronu całkowitego (metoda bezpośrednia, ekstrakcja, próbki opłaszczane)

W skład testosteronu całkowitego w osoczu wchodzi wolny testosteron i testosteron związany z SHBG, albuminami i CBG. Rozkład procentowy tych postaci hormonu przedstawia się następująco: (odpowiednio) 2,7, 32, 65 i <0,1%.

Rozpuszczalniki przerywają wiązanie hormonu z białkami w oznaczeniach ekstrakcyjnych, podczas gdy środki blokujące uwalniają testosteron z białek w oznaczeniach bezpośrednich. Zaleta oznaczenia wolnego testosteronu polega na równowadze stężeń wolnego testosteronu z poziomami testosteronu związanego z receptorami w tkankach.

2. ZAŁOŻENIA METODY: Oznaczenie wolnego testosteronu (FT) metodą CT RIA polega na zastosowaniu prawa działania mas, zgodnie z następującym równaniem:



Ponieważ stężenia ${}^{125}\text{I} - \text{FT}$ i opłaszczonych przeciwciał są stałe, osiągnięcie równowagi zależy od poziomu FT. Ilość ${}^{125}\text{I} - \text{FT}$ związana w opłaszczonej próbce jest odwrotnie proporcjonalna do stężenia FT w próbce.

Po okresie inkubacji, zawartość próbki jest aspirowana w celu usunięcia nadmiaru niezwiązanego oznakowanego T.

Stężenia substancji w próbce pacjenta odczytywane są za pomocą krzywej kalibracyjnej.

3. MATERIAŁY DOSTARCZONE I PRZECHOWYWANIE:

Przechowywany w temperaturze 2-8°C materiał, może być wykorzystywany do daty ważności wydrukowanej na każdej etykiecie.

3.1.  2 x 48 próbek polistyrenowych (12 x 75 mm) opłaszczonych przeciwciałami poliklonalnymi anty-testosteronowymi.

Przed użyciem należy zawsze umożliwić osiągnięcie przez opłaszczone próbki temperatury pokojowej.

3.2.

Ag	125I
----	------

 żółte, 42 ml

1 butelka analogu WOLNEGO TESTOSTERONU, oznakowanego ${}^{125}\text{I}$ w buforze opartym na substancji białkowej, zawierającym <0,1 % NaN_3 jako środek konserwujący.

Każda butelka zawiera mniejszą dawkę substancji promieniotwórczych niż 185 Kq (5 μCi)

3.3.

CAL	N
-----	---

 0,5 ml w każdej fiole – N= od 0 do 6

7 fiolek WOLNEGO TESTOSTERONU w ludzkiej surowicy z zawartością środka konserwującego (NaN_3 < 0,1 %).

Stężenia są wydrukowane na etykietach.

3.4.

CONTROL	N
---------	---

 0,5 ml w każdej fiole – N= 1 lub 2
2 fiolek ludzkiej surowicy z zawartością środka konserwującego (NaN_3 < 0,1 %). Surowice kontrolne powinny być oznaczane razem z próbkami pacjentów. Zakresy dla surowic kontrolnych są wydrukowane na etykietach fiolek.

3.5.

WASH	SOLN	CONC
------	------	------

 roztwór 70 x stężony, 10 ml
1 butelka stężonego roztworu buforowego, zawierającego azydek sodowy (NaN_3 < 0,1 %). Nalać roztwór do 700 ml wody destylowanej.

4. MATERIAŁY WYMAGANE LECZ NIE ZAWARTE W ZESTAWIE:

- powierzchnie robocze, zabezpieczone papierem absorbującym, w celu ograniczenia ryzyka wycieku płynnych substancji radioaktywnych.
- pojemniki na odpady, odpowiednio oznakowane i przeznaczone do przechowywania stałych lub ciekłych materiałów radioaktywnych.
- mikropipety ręczne lub automatyczne do dozowania próbek lub odczynników, bez możliwości skażenia krzyżowego.
- papier absorbujący.
- pompa próżniowa podłączona przez syfon do aspiracji.
- łaznia wodna.
- licznik scyntylacyjny promieniowania gamma.
- odpowiedni papier milimetrový do wykresowania wyników.

5. METODOLOGIA

5.1. Pobieranie i postępowanie z próbkami krwi:

Próbki krwi mogą być pobierane do suchej próbki.

Po oddzieleniu od elementów morfotycznych, próbki surowicy mogą być oznaczane od razu, w ciągu 24 godzin, jeżeli są przechowywane w temperaturze od 2 do 8°C lub później, w okresie kilku miesięcy, jeżeli są przechowywane w temperaturze -20°C. Należy unikać wielokrotnego zamrażania i rozmrażania.

5.2. Procedura oznaczenia:

Odczynniki przechowywane w temperaturze od 2°C do 8°C przed zastosowaniem muszą zostać doprowadzone do temperatury pokojowej. Nie wolno mieszać odczynników pochodzących z różnych serii. Należy odpowiednio oznaczyć próbki jako T (« Total Counts ») – próbki do całkowitego zliczania – nie używać do tego próbek opłaszczonych) oraz próbki kalibratorów, próbek i kontroli. Kalibratory i kontrole powinny być wymieszane przed zastosowaniem bardziej poprzez odwracanie lub obracanie, niż przez wirowanie.

Oznaczenie należy wykonywać podwójnie. Kalibratory, kontrole i próbki muszą być oznaczone w tym samym czasie.

1. Krzywa kalibracyjna:

Pipetować po 50 μl każdego kalibratora do odpowiednich próbek.

2. Próbki i surowice kontrolne:

Pipetować po 50 μl każdej próbki lub surowicy kontrolnej do odpowiednich próbek.

3. Dodać 400 μl znacznika analogu ${}^{125}\text{I}$ – TESTOSTERONU do każdej próbki. Wirować i przykryć.

4. Inkubować przez dwie godziny w temperaturze $37 \pm 2^\circ\text{C}$.

5. Dokładnie aspirować roztwory lub osuszyć (przed osuszeniem należy dodać 2 ml roztworu płuczącego do każdej próbki) wszystkie próbki. (Z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania).

6. Dodać 2 ml roztworu płuczącego do każdej próbki. Dokładnie aspirować lub osuszyć zawartość.

7. Zliczać poziom radioaktywności dla każdej próbki przez co najmniej 60 sekund.

5.3. Przetwarzanie danych:

Określić średnią prędkość zliczania dla każdego zestawu podwójnych próbek.

Obliczyć stosunek B/B0, jak przedstawiono poniżej:

$$B/B0 \% = \left[\frac{\text{liczba zliczeń na minutę (cpm) kalibratora lub próbki}}{B0 \text{ (Kal 0) cpm}} \right] \times 100$$

Wykreślić krzywą kalibracyjną na papierze półlogarytmicznym, wykreślając stosunek B/B0 % (skala liniowa) uzyskany dla każdego kalibratora, w odniesieniu do ich odpowiednich stężeń, wyrażonych w pg/ml (skala logarytmiczna). Stężenia WOLNEGO TESTOSTERONU w próbkach mogą być odczytane bezpośrednio z krzywej kalibracyjnej.

Jeżeli do obliczania wyników wykorzystywany jest komputer, dane mogą być dopasowane do właściwego równania : wygładzona krzywa składana.

5.4. Przykład typowych oznaczeń:

	Zawartość (pg/ml)	cpm pierwsza duplikacja	cpm druga duplikacja	Średnia prędkość zliczania	B/Bo (%)	Wolny testosteron (pg/ml)
Liczba zliczeń całkowitych	-	52039	51647	51843	-	-
Kal 0	0	25839	25961	25900	100	-
Kal 1	0,3	21086	21170	21128	81,6	-
Kal 2	1	46509	46203	46356	63,2	-
Kal 3	3	12437	12428	12433	48	-
Kal 4	10	8317	7916	8117	31,3	-
Kal 5	30	5017	4711	4864	18,8	-
Kal 6	90	2611	2528	2570	9,9	-
C 1 poziom niski	1,5 – 2,9	13461	13557	13508	52,2	2,3
C 2 poziom wysoki	15 – 29	5736	5002	5369	20,8	21
Próbka 1		17478	16742	16975	65,5	0,86
Próbka 2		7538	7423	7481	28,9	11,5
Próbka 3		4681	4645	4663	24,3	33

Przykład typowego oznaczenia (nie powinien być wykorzystywany do obliczeń)

6. CHARAKTERYSTYKA DZIAŁANIA:

6.1. Swoistość

Steryd	% reaktywności krzyżowej
Testosteron	100
5α DHT	0,006
androstenedion	0,02
β estradiol	0,0003
DHEA-S	0,000001
Androsteron, kortykosteron, 11 DOC, estriol, estron, progesteron, DHEA	nie wykryto

6.2. Minimalne wykrywalne stężenie WOLNEGO TESTOSTERONU:

Minimalne wykrywalne stężenie zostało oznaczone na poziomie 0,13 pg/ml i odpowiada stężeniu wynikającemu z dwóch odchył standardowych, poniżej średniej liczby zliczeń na minutę 20 powtórnych oznaczeń kalibratora zerowego.

6.3. Odtwarzalność:

	Wartość średnia (pg/ml)	Zmienność w serii (% CV) 10 powtórnych oznaczeń	Zmienność pomiędzy seriami (% CV) 7 oddzielnych oznaczeń w oznaczeniach podwójnych
Pula 1	0,73	11,4	18,07
Pula 2	10,89	5,7	6,72
Pula 3	33,94	9,3	8,46

7. OGRANICZENIA PROCEDURY

- Wyniki uzyskane na podstawie tego lub innych zestawów diagnostycznych, powinny być stosowane i interpretowane w kontekście całkowitego obrazu klinicznego.
- Nie wolno wykorzystywać próbek lipemicznych, shemolizowanych, żółtaczkowych lub mętnych.
- Nie wolno wykorzystywać próbek osocza.

8. OCZEKIWANE WARTOŚCI

Zaleca się, aby każde laboratorium opracowało własne zakresy referencyjne.

Grupa wiekowa	Mężczyźni (pg/ml)		Kobiety (pg/ml)	
	Mediana stężenie	Zakres *	Mediana stężenie	Zakres *
<20	-	0,2 – 42,5	0,95	ND – 3,09
20 - 39	22	8,9 – 42,5	1	ND – 3,09
40 - 59	16,2	6,6 – 30,0	0,9	ND – 2,60
>60	11,9	4,9 – 21,6	0,7	ND – 1,80

* 95% percentylach

9. OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Przeznaczone wyłącznie do diagnostyki in vitro.

UWAGA: Materiał radioaktywny

W Zestaw zawiera ¹²⁵I (Okres połowicznego rozpadu: 60 dni), emitujący promieniowanie jonizujące X (28 keV) i γ (35,5 keV).

Ten produkt radioaktywny może być transportowany i wykorzystany wyłącznie przez osoby autoryzowane; zakup, przechowywanie, stosowanie i wymiana produktów radioaktywnych podlega regulacjom prawnym kraju użytkownika końcowego. W żadnym wypadku produkt nie może być podawany ludziom lub zwierzętom.

Obsługa materiałów radioaktywnych powinno być przeprowadzana w miejscach do tego przeznaczonych, z dala od miejsc ogólnej użyteczności. W laboratorium musi być przechowywany rejestr przyjęć i przechowywania materiałów radioaktywnych. Wyposażenie laboratorium oraz szkło, które może być skażone substancjami radioaktywnymi powinno być oddzielone w celu uniknięcia krzyżowego zanieczyszczenia różnych radioizotopów.

Wszelkie plamy z substancji radioaktywnych muszą być natychmiast oczyszczone zgodnie z procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa radiologicznego. Odpady radioaktywne muszą być usuwane zgodnie z miejscowymi przepisami i ogólnie przyjętymi wytycznymi obowiązującymi w laboratorium. Przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa radiologicznego zapewnia wystarczające zabezpieczenie.

Nie wolno palić, spożywać napojów ani pokarmów, bądź używać kosmetyków w miejscu pracy. Nie pipetować ustami. Zakładać ubranie ochronne i rękawiczki jednorazowe.

OSTRZEŻENIE: Azydek sodu

Niektóre składniki zawierają azydek sodu jako środek konserwujący (NaN₃ < 0,1%). Odczynnik należy utylizować, wylewając je do kanalizacji i splukując dużą ilością wody.

OSTRZEŻENIE: Materiał potencjalnie zakaźny

Wszystkie składniki (i wszystkie próbki pacjentów) należy traktować jako materiał potencjalnie zakaźny, mogący zawierać wirusy zapalenia wątroby B i C lub nabytego zespołu upośledzenia odporności (AIDS).

Materiał źródłowy, pochodzący z płynów uzyskiwanych z ciała ludzkiego lub tkanek, wykorzystywany w przygotowaniu tego zestawu, był przebadany metodami immunoenzymatycznymi. Wyniki testów na obecność HBsAg i przeciwciał anty-HCV były ujemne. Jednak żadna metoda nie może zagwarantować, że taki materiał nie zawiera wirusów zapalenia wątroby.

W podobny sposób, wszystkie materiały wykorzystywane do przygotowywania tego zestawu były badane przesiewowo pod kątem obecności wirusów HIV-1 i -2 metodami immunoenzymatycznymi. Wyniki tych badań były ujemne. Jednak brak przeciwciał przeciwko tym wirusom nie może zagwarantować nieobecności wirusów odpowiadających za występowanie zespołu nabytego upośledzenia odporności.

10. BIBLIOGRAFIA

- Abraham G., Manlinos F. and Garza R. : Handbook of radioimmunoassay . Abraham G.(eds) Marcel Dekker, Inc. New York. 599, 1977
- Vermeulen A. : Androgen secretion by adrenals and gonads . in : Malesh V, Greenblatt RB, editors. Hirsutism and virilism . Boston : John Wright - PSG inc., 17 , 1983
- Green PJ. : Free testosterone determination by ultrafiltration and comparison with dialysis .Clinical Chemistry , 28 , 1237 , 1982
- Hanin RV. : Testosterone free index correlates best with dehydroepiandrosterone sulfate Fertility and Sterility , 36 , 757 , 1981
- Biffignandi P., Massucchetti C., Molinari GM. : Female hirsutism : pathophysiological consideration and therapeutic implications. Endocrine reviews , 5 , 498 , 1984.
- Manni A., Partridge WM., Cefalu W., Nisula BC. Bardin CW., Santner SJ., Santen RJ. : J. Clin. Endocrinol. Metab. 61 , 705 , 1985.
- Ekins RP : Free hormones in blood : concept and measurement. J. Clin. Immunoassay 7 , 163 , 1984.
- Nieschlag E. and Wicking EJ. : Role of testosterone in evaluation of testicular function. Radioassay systems in Clinical endocrinology , G. Abraham , ed. New York , 169 , 1981

Data wydania: 2010-03-10



Free TESTOSTERONE-RIA-CT

Radioimunoensaio para Determinação Quantitativa de Testosterona Livre em Soro Humano

KIPI19000

Uso para Diagnóstico "IN VITRO"

pt

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, Belgium - Tel: +32 67 88 99 99 - Fax : +32 67 88 99 96

1. Intenção de uso : Para determinação "IN VITRO" dos níveis de Testosterona Livre (FT) em hirsutismo e hipogonadismo.

A Testosterona livre difunde-se através das membranas celulares e liga-se a receptores proteicos específicos (receptores andrógenos); os complexos receptores-testosterona agem como moduladores transcricionais nas regiões cis-regulatórias de vários genes.

Excesso de andrógeno em mulheres causa hirsutismo e sinais de virilização; o nível de Testosterona no soro deve ser determinado antes e depois de estimulação e supressão ovariana e adrenal para identificar a fonte de produção excessiva de hormônios.

Hipogonadismo primário e secundário em homens resulta em hipoandrogenização clínica, correlacionada com falência gonadal na produção de Testosterona. A determinação da Testosterona no soro juntamente com LH permite a correta avaliação destas condições.

O diagnóstico da verdadeira anorquia deve também discriminar esta condição de criptorquidismo. Sobre prolongada estimulação de hCG, os níveis de Testosterona permanecem muito baixos na anorquia verdadeira, enquanto que nos testes criptorquídios podem responder a estimulação.

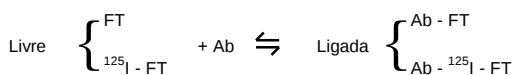
Síndromes da resistência andrógena, devido à deficiência ligada ao receptor do gene X, são feitas de várias medidas da ambigüidade sexual. Qualquer que seja a severidade das anormalidades fenotípicas, a Testosterona no soro é sistematicamente alta considerando os níveis no soro de LH nestas condições.

Ensaio de Testosterona incluem testosterona total (direta, extração, tubos revestidos) e determinações de testosterona livre.

Testosterona total no plasma inclui: Testosterona livre e Testosterona ligada a SHBG, albumina, CBG. A percentagem média de cada, em homens normais, é 2,7, 32, 65 e < 0.1 respectivamente.

Solventes quebram ligações protéicas nos ensaios de extração enquanto agentes de bloqueio liberam Testosterona das proteínas em ensaios diretos. A vantagem do ensaio da testosterona livre é que as concentrações de testosterona livre estão em equilíbrio com a testosterona ligada a receptores nos órgãos.

2. PRINCÍPIO DO MÉTODO : A Testosterona livre (TF) CT RIA obedece à lei da ação da massa atuando de acordo com a equação a seguir:



Desde que as concentrações de ${}^{125}\text{I}$ - TF e anticorpos adsorvidos são constantes, o estado de progresso da equação depende da concentração de TF. A quantidade de ${}^{125}\text{I}$ - TF ligado ao tubo adsorvido é inversamente proporcional à concentração de TF na amostra.

Seguindo a incubação, o tubo é aspirado para remover o excesso de T marcado não ligado.

Concentração das amostras de pacientes são lidas na curva de calibração.

3. MATERIAL FORNECIDO E ESTOCAGEM :

Estocado à 2 - 8°C, o material pode ser usado até o prazo de validade impresso em cada etiqueta.

- 3.1.

--	--

 2 x 48 Tubos de Polistireno (12 x 75 mm) adsorvidos com anticorpos policlonais anti-Testosterona. Permita que os tubos adsorvidos alcancem a temperatura ambiente antes do uso.
- 3.2.

Ag	125I
----	------

 amarelo, 42 ml
1 frasco de Testosterona Livre marcada com 125I análoga na proteína. Tampão contendo < 0.1 % NaN₃ como preservativo.
Cada frasco contém menos que 185 Kbpq (5 µCi)
- 3.3.

CAL	N
-----	---

 0.5 ml em cada tubo - N=0 to 5
6 tubos de Testosterona Livre em soro humano contendo preservativo (NaN₃< 0.1 %).
As concentrações estão marcadas nas etiquetas.

- 3.4.

CONTROL	N
---------	---

 0.5 ml em cada tubo - N=1 ou 2
2 tubos de soro humano contendo preservativo (NaN₃ < 0.1 %). Os soros controle são analisados juntamente com as amostras dos pacientes. As médias para o soro controle são impressas nas etiquetas dos tubos.

- 3.5.

WASH	SOLN	CONC
------	------	------

 70 x concentrado, 10 ml
1 frasco de solução tampão concentrado contendo azida sodica (NaN₃ < 0.1 %). Coloque a solução em 700 ml de água destilada.

4. MATERIAL REQUERIDO MAS NÃO FORNECIDO :

- bancada, protegida por papel absorvente para reduzir os efeitos da contaminação pela radioatividade.
- containers para descarte do lixo, apropriadamente marcado e apropriado para materiais radioativos líquidos e sólidos.
- micropipetas manuais ou automáticas para dispensar amostras ou reagentes sem contaminação cruzada.
- papel absorvente.
- bomba de vácuo, para aspiração.
- banho maria
- contador de cintilação gamma
- papel gráfico apropriado para plotar os resultados.

5. METODOLOGIA

5.1. Coleta e manuseio das amostras de sangue :

A amostra de sangue pode ser coletada dentro de um tubo seco.

Após separação das células vermelhas, as amostras de soro podem ser analisadas imediatamente, dentro de 24 horas se estocadas à 2 - 8°C, ou mais tarde, após um período superior a alguns meses, se estocadas à -20°C. Deve-se evitar repetidos descongelamentos e congelamentos.

5.2. Procedimento do ensaio :

Reagentes estocados à 2°- 8° C. devem ser colocados à temperatura ambiente antes do uso. Não misture reagentes de diferentes lotes. Marque os tubos para T (« ContagemTotal » não use tubos recobertos) calibradores, amostras e controles. Calibradores e controles devem ser misturados antes do uso por inversão ou agitação, mas não por rotação no vortex.

Realize o ensaio em duplicata. Calibradores, controles e amostras devem ser analisados ao mesmo tempo.

1. Curva calibradora :

Pipete 50 µl de cada calibrador dentro dos tubos correspondentes.

2. Amostras e soro controle :

Pipete 50 µl de cada amostra ou soro controle dentro dos tubos correspondentes.

3. Adicione 400 µl de ${}^{125}\text{I}$ - TESTOSTERONA marcada análoga para cada tubo. Vortex e cubra.

4. Incube 2 horas à 37 ± 2°C.

5. Cuidadosamente aspire ou decante (antes de decantar, adicione 2 ml de solução de lavagem em cada tubo) a solução de todos os tubos. (Exceto tubos de contagem total).

6. Adicione 2 ml de solução de lavagem em cada tubo. Aspire ou decante cuidadosamente.

7. Conte a radioatividade fixada em cada tubo por pelo menos 60 segundos

5.3. Processando os dados

Determine a contagem média para cada conjunto de tubos em duplicata.

Calcule a proporção B/B0 como a seguir :

$$B/B0 \% = [\text{Cal ou Smp cpm} / B0 (\text{Cal } 0) \text{ cpm}] \times 100$$

Desenhe a curva calibradora em papel semilogarítmico plotando a proporção B/B0 % (escala linear) obtida de cada calibrador versus sua respectiva concentração expressada em pg/ml (escala logarítmica). Concentração de TESTOSTERONA LIVRE nas amostras podem ser lidas diretamente da curva calibradora.

Se o computador é usado para calcular os resultados, os dados devem ser ajustados para equação apropriada : smoothed spline.

5.4. Exemplo de um ensaio típico

	Conteúdo (pg/ml)	cpm duplicata	cpm 2nd duplicata	Contagem Média padrão	B/Bo (%)	Testosterona Livre (pg/ml)
Contagem Total	-	33231	33031	33131	-	-
Cal 0	0	12866	12140	12503	100	-
Cal 1	0.25	10966	10395	10681	85.4	-
Cal 2	1	7624	7981	7803	62.4	-
Cal 3	5	5204	5335	5270	42	-
Cal 4	20	3371	3553	3252	26.9	-
Cal 5	65	1943	1970	1956	15.6	-
C 1 low	1.6 – 2.7	10731	10175	10453	55.6	1.75
C 2 high	16 – 29	5489	5332	5411	26	21.3
Sample 1		11455	11521	11488	91.9	0.16
Sample 2		9458	9362	9410	75.3	0.45
Sample 3		6996	6864	6880	55	1.8

Exemplo de ensaio típico, não use para cálculos

6. PERFORMANCE CARACTERÍSTICAS :

6.1. Especificidade

Esteróide	% Reação-cruzada
Testosterona	100
5α DHT	0.006
andostenediona	0.02
β estradiol	0.0003
DHEA-S	0.000001
Androsterona, Corticosterona, 11 DOC, estríol, estrona, progesterona, DHEA	N.D.

6.2. Concentração mínima detectável de Testosterona Livre :

Concentração mínima detectável tem sido analisada a 0.13 pg/ml e corresponde a concentração dada por dois desvios padrões abaixo da média com 20 determinações replicadas do calibrador zero.

6.3. Reprodutibilidade :

	Valor médio (pg/ml)	Varição dentro do ensaio (% CV) 10 replicatas	Varição entre os ensaios (% CV) 7 Ensaios separados em duplicata
Pool 1	0.73	11.4	18.07
Pool 2	10.89	5.7	6.72
Pool 3	33.94	9.3	8.46

7. LIMITAÇÃO DO PROCEDIMENTO

7.1. Os resultados obtidos deste ou de outro kit de diagnóstico devem ser usados e interpretados somente dentro do contexto de um quadro clínico.

7.2. Não use amostras lipêmicas, hemolizadas, ictericas ou turvas.

7.3. Não use amostras de plasma

8. VALORES ESPERADOS

É recomendado para cada laboratório estabelecer seus próprios valores de referência.

Grupo idade	Homens (pg/ml)		Mulheres (pg/ml)	
	Média	Intervalo *	Média	Intervalo *
<20	-	0,2 – 42,5	0,95	ND – 3,09
20 - 39	22	8,9 – 42,5	1	ND – 3,09
40 - 59	16,2	6,6 – 30,0	0,9	ND – 2,60
>60	11,9	4,9 – 21,6	0,7	ND – 1,80

* 95% percentis

9. CUIDADOS E PRECAUÇÕES

Somente para diagnóstico IN VITRO

CUIDADO : Material Radioativo

Este kit contém ¹²⁵I (meia-vida: 60 dias), emitindo radiações X (28 keV) e γ (35.5 keV) ionizantes.

Este produto radioativo pode ser transferido e utilizado apenas por pessoas autorizadas; a aquisição, conservação, uso e troca de produtos radioativos está sujeita a legislação nacional. Em caso algum este produto poderá ser administrado a seres humanos ou a animais.

Toda a manipulação de material radioativo deve ser executada em área própria longe de locais de passagem. Deve ser mantido no laboratório um livro de notas (log book) para a recepção e conservação dos materiais radioativos. O equipamento de laboratório contaminado e as substâncias perigosas devem ser eliminadas e separadas para evitar contaminação por diferentes isótopos.

Quaisquer derrames de material radioativo devem ser imediatamente limpos de acordo com os procedimentos de radiossegurança. O lixo radioativo deve ser eliminado de acordo com a legislação local e com as directrizes vigentes. A adesão às regras básicas de segurança com material radioativo confere a protecção adequada.

Evitar contacto com a pele, olhos e mucosas (azida sódica como conservante) Não fume, beba, coma ou aplique cosméticos na área de trabalho. Não utilize as pipetas com o auxílio da boca. Use vestuário de protecção e luvas descartáveis.

CUIDADO : Azida Sódica

Alguns componentes contêm azida sódica como agente preservativo (NaN₃ < 0,1%). Descarte todos os reagentes lavando com grande quantidade de água através de um sistema de bombeamento.

CUIDADO: material potencialmente contaminado

Manuseie todos os componentes (e todas as amostras de pacientes) como se fosse capaz de transmitir doenças virais como as hepatites B e C e AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida).

Fontes de materiais derivados de fluidos corporais e órgãos humanos são usados na preparação deste kit foram testados e dando negativos para HBSAg e anti-HCV por imunoensaio. Entretanto, não é conhecido nenhum teste que garanta que o material não contenha agentes causadores de hepatites virais.

Do mesmo modo, todos os materiais humanos usados na preparação deste kit foram testados para presença de anticorpos contra HIV-1 e -2 por ELISA e foram negativos. Entretanto, a ausência destes anticorpos não garante a ausência do agente viral responsável pela síndrome da imunodeficiência adquirida.

10. BIBLIOGRAFIA

1. Abraham G., Manlinos F. and Garza R. : Handbook of radioimmunoassay . Abraham G.(eds) Marcel Dekker, Inc. New York. 599, 1977
2. Vermeulen A. : Androgen secretion by adrenals and gonads . in : Malesh V, Greenblatt RB, editors. Hirsutism and virilism . Boston : John Wright - PSG inc., 17 , 1983
3. Green PJ. : Free testosterone determination by ultrafiltration and comparison with dialysis .Clinical Chemistry , 28 , 1237 , 1982
4. Haning RV. : Testosterone free index correlates best with dehydroepiandrosterone sulfate Fertility and Sterility , 36 , 757 , 1981
5. Biffignandi P., Massucchetti C., Molinatti GM. : Female hirsutism : pathophysiological consideration and therapeutic implications. Endocrine reviews , 5 , 498 , 1984.
6. Manni A., Partridge WM., Cefalu W., Nisula BC. Bardin CW., Santner SJ., Santen RJ. : J. Clin. Endocrinol. Metab. 61 , 705 , 1985.
7. Ekins RP : Free hormones in blood : concept and measurement. J. Clin. Immunoassay 7 , 163 , 1984.
8. Nieschlag E. and Wickings EJ. : Role of testosterone in evaluation of testicular function. Radioassay systems in Clinical endocrinology , G. Abraham , ed. New York , 169 , 1981

Data da revisão : 2010-03-10

	<u>Used symbols</u>	<u>Symboles utilisés</u>
	Consult instructions for use	Consulter les instructions d'utilisation
	Storage temperature	Température de conservation
	Use by	Utiliser jusque
	Batch code	Numéro de lot
	Catalogue number	Référence de catalogue
	Control	Contrôle
	In vitro diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Manufacturer	Fabricant
	Contains sufficient for <n> tests	Contenu suffisant pour <n> tests
	Wash solution concentrated	Solution de lavage concentrée
	Zero calibrator	Calibrateur zéro
	Calibrator #	Calibrateur #
	Control #	Contrôle #
	Tracer	Traceur
	Tracer	Traceur
	Tracer concentrated	Traceur concentré
	Tracer concentrated	Traceur concentré
	Tubes	Tubes
	Incubation buffer	Tampon d'incubation
	Acetonitrile	Acétonitrile
	Serum	Sérum
	Specimen diluent	Diluant du spécimen
	Dilution buffer	Tampon de dilution
	Antiserum	Antisérum
	Immunoabsorbent	Immunoabsorbant
	Calibrator diluent	Diluant de calibrateur
	Reconstitution solution	Solution de reconstitution
	Polyethylene glycol	Glycol Polyéthylène
	Extraction solution	Solution d'extraction
	Elution solution	Solution d'élution
	Bond Elut Silica cartridges	Cartouches Bond Elut Silica
	Pre-treatment solution	Solution de pré-traitement
	Neutralization solution	Solution de neutralisation
	Tracer buffer	Tampon traceur
	Microtiterplate	Microplaque de titration
	HRP Conjugate	HRP Conjugué
	HRP Conjugate	HRP Conjugué
	HRP Conjugate concentrate	HRP Conjugué concentré
	HRP Conjugate concentrate	HRP Conjugué concentré
	Conjugate buffer	Tampon conjugué
	Chromogenic TMB concentrate	Chromogène TMB concentré
	Chromogenic TMB solution	Solution chromogène TMB
	Substrate buffer	Tampon substrat
	Stop solution	Solution d'arrêt
	Incubation serum	Sérum d'incubation
	Buffer	Tampon
	AP Conjugate	AP Conjugué
	Substrate PNPP	Tampon PNPP
	Biotin conjugate concentrate	Biotine conjugué concentré
	Avidine HRP concentrate	Avidine HRP concentré
	Assay buffer	Tampon de test
	Biotin conjugate	Biotine conjugué
	Specific Antibody	Anticorps spécifique
	Streptavidin HRP concentrate	Concentré streptavidine HRP
	Non-specific binding	Liant non spécifique
	2nd Antibody	Second anticorps
	Acidification Buffer	Tampon d'acidification

	<u>Gebruikte symbolen</u>	<u>Gebrauchte Symbolen</u>
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Gebrauchsanweisung beachten
	Bewaartemperatuur	Lagern bei
	Houdbaar tot	Verwendbar bis
	Lotnummer	Chargenbezeichnung
	Catalogusnummer	Bestellnummer
	Controle	Kontrolle
	Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek	In Vitro Diagnostikum
	Fabrikant	Hersteller
	Inhoud voldoende voor <n> testen	Ausreichend für <n> Ansätze
	Wasoplossing, geconcentreerd	Waschlösung-Konzentrat
	Nulkalibrator	Null kalibrator
	Kalibrator #	Kalibrator #
	Controle #	Kontrolle #
	Tracer	Tracer
	Tracer	Tracer
	Tracer geconcentreerd	Tracer Konzentrat
	Tracer geconcentreerd	Tracer Konzentrat
	Buisjes	Röhrchen
	Incubatiebuffer	Inkubationspuffer
	Acetonitrile	Azetonitril
	Serum	Humanserum
	Specimen diluent	Probenverdünner
	Verdunningsbuffer	Verdünnungspuffer
	Antiserum	Antiserum
	Immunoabsorbent	Immunadsorbens
	Kalibratorverdunner	Kalibratorverdünnung
	Reconstitutieoplossing	Rekonstitutionslösung
	Polyethyleen glycol	Polyethylenglykol
	Extractieoplossing	Extraktionslösung
	Elutieoplossing	Eluierungslösung
	Bond Elut Silica kolom	Bond Elut Silikakartuschen
	Pre-behandelingsoplossing	Vorbehandlungslösung
	Neutralisatieoplossing	Neutralisierungslösung
	Tracerbuffer	Tracer-Puffer
	Microtiterplaat	Mikrotiterplatte
	HRP Conjugaat	HRP Konjugat
	HRP Conjugaat	HRP Konjugat
	HRP Conjugaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	HRP Conjugaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	Conjugaat buffer	Konjugatpuffer
	Chromogene TMB geconcentreerd	Chromogenes TMB Konzentrat
	Chromogene Oplossing TMB	Farblösung TMB
	Substraatbuffer	Substratpuffer
	Stopoplossing	Stopplösung
	Incubatieserum	Inkubationsserum
	Buffer	Puffer
	AP Conjugaat	AP Konjugat
	Substraat PNPP	Substraat PNPP
	Geconcentreerd Biotine conjugaat	Biotin-Konjugat-Konzentrat
	Geconcentreerd Avidine-HRP conjugaat	Avidin-HRP-Konzentrat
	Assay buffer	Assaypuffer
	Biotine conjugaat	Biotin-Konjugat
	Specifiek antilichaam	Spezifischer Antikörper
	Streptavidine-HRP concentraat	HRP Streptavidinkonzentrat
	Aspecifieke binding	Unspezifische Bindung
	2de antilichaam	Sekundärer Antikörper
	Verzuringbuffer	Ansäuerungspuffer

	<u>Simboli utilizzati</u>	<u>Símbolos utilizados</u>
	Consultare le istruzioni per l'uso	Consultar las instrucciones de uso
	Limitazioni di temperatura	Limitación de temperatura
	Utilizzare entro	Fecha de caducidad
	Numero di lotto	Código de lote
	Numero di catalogo	Número de catálogo
	Controllo	Control
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Fabbricante	Fabricante
	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Tampone di lavaggio concentrato	Solución de lavado concentrada
	Calibratore zero	Calibrador cero
	Standard #	Calibrador #
	Controllo #	Control #
	Marcato	Trazador
	Marcato	Trazador
	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Provette	Tubos
	Tampone incubazione	Tampón de incubación
	Acetonitrile	Acetonitrilo
	Siero	Suero
	Diluente campione	Diluyente de Muestra
	Tampone diluizione	Tampón de dilución
	Antisiero	Antisuero
	Immunoassorbente	Inmunoadsorbente
	Diluente calibratore	Diluyente de calibrador
	Soluzione di ricostituzione	Solución de Reconstitución
	Polietilenglicole	Glicol Polietileno
	Soluzione di estrazione	Solución de extracción
	Soluzione di eluizione	Solución de elución
	Cartucce di silice bond elut	Cartuchos Bond Elut Silica
	Soluzione di pretrattamento	Solución de Pre-tratamiento
	Soluzione di neutralizzazione	Solución de Neutralización
	Tracer Buffer	Tampón de trazador
	Piastra di microtitolazione	Placa de microvaloración
	HRP Coniugato	HRP Conjugado
	HRP Coniugato	HRP Conjugado
	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
	Buffer coniugato	Tampón de Conjugado
	Cromogena TMB concentrato	Cromógena TMB concentrada
	Soluzione cromogena TMB	Solución Cromógena TMB
	Tampone substrato	Tampón de sustrato
	Soluzione di arresto	Solución de Parada
	Incubazione con siero	Suero de Incubación
	Buffer	Tampón
	AP Coniugato	AP Conjugado
	Substrato PNPP	Sustrato PNPP
	Concentrato coniugato con biotina	Concentrado de conjugado de biotina
	Concentrato avidina HRP	Concentrado avidina-HRP
	Soluzione tampone per test	Tampón de ensayo
	Coniugato con biotina	Conjugado de biotina
	Anticorpo Specifico	Anticuerpo específico
	Streptavidina-HRP concentrata	Estreptavidina-HRP Concentrado
	Legame non-specifico	Unión no específica
	2° Anticorpo	Segundo anticuerpo
	Tampone Acidificante	Tampón de Acidificación

	<u>Símbolos utilizados</u>	<u>Använda symboler</u>
	Consulte instruções de utilização	Läs instruktionerna före användning
	Temperatura de conservação	Förvaringstemperatur
	Utilizar antes de	Används av
	Código de lote	Lotnummer
	Número de catálogo	Katalognummer
	Controlo	Kontroll
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro	In vitro diagnostiskt kit
	Fabricante	Tillverkare
	Conteúdo suficiente para <n> testes	Innehållet räcker till <n> prover
	Solução de lavagem concentrada	Tvättlösning, koncentrerad
	Calibrador zero	Nollkalibrerare
	Calibrador #	Kalibrator #
	Controlo #	Kontroll #
	Marcador	Radioisotop, antigen
	Marcador	Radioisotop, antikropp
	Marcador concentrada	Radioisotop, antigen koncentrerad
	Marcador concentrada	Radioisotop, antikropp koncentrerad
	Tubos	Rör
	Tampão de incubação	Inkuberingsbuffert
	Acetonitrilo	Acetonitril
	Soro	Serum
	Diluidor de espécimes	Spädningsbuffert för prover
	Tampão de diluição	Spädningsbuffert
	Anti-soro	Antiserum
	Imunoadsorvente	Immunoadsorberare
	Diluyente do calibrador	Kalibratordiluent
	Solução de Reconstituição	Rekonstitutionslösning
	Polietileno-glicol	Polyetylen glykol
	Solução de Extração	Extraktionslösning
	Solução de Eluição	Elueringslösning
	Cartuchos de sílica Bond Elut	Silikonpatroner för elueringsbindning
	Solução de pré-tratamento	Förbehandlingslösning
	Solução de neutralização	Neutraliseringslösning
	Tampão Marcador	Tracerbuffert
	Placa de micro titulação	Microtiterplatta
	HRP Conjugação	HRP-konjugat
	HRP Conjugação	HRP-konjugat
	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
	Conjuge o tampão	Konjugatbuffert
	Cromogénica TMB concentrada	Kromogeniskt TMB-koncentrat
	Solução Cromogénica TMB	Kromogenisk TMB-lösning
	Tampão de substrato	Substratbuffert
	Solução de Paragem	Stopplösning
	Soro de incubação	Inkubationsserum
	Tampão	Buffert
	AP Conjugação	AP-konjugat
	Substrato PNPP	Substrat-PNPP
	Concentrado conjugado de biotina	Biotinkonjugat koncentrat
	Concentrado HRP de avidina	Avidin HRP-koncentrat
	Tampão de ensaio	Provbuffert
	Conjugado de biotina	Biotinkonjugat
	Anticorpo específico	-
	Estreptavidina HRP concentrado	-
	Ligações não específicas	-
	Anticorpo secundário	-
	Tampão de acidificação	-

	<u>Επεξήγηση συμβόλων</u>	<u>Anvendte symboler</u>
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	Læs brugsvejledningen
	Θερμοκρασία αποθήκευσης	Opbevaringstemperatur
	Ημερομηνία λήξης	Anvend inden
	Αριθμός παρτίδας	Batchkode
	Αριθμός καταλόγου	Katalognummer
	Πρότυπο ελέγχου	Kontrol
	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnosticering
	Κατασκευαστής	Fabrikant
	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις	Indeholder nok til <n> test
	Συμπυκνωμένο διάλυμα έκπλυσης	Koncentreret vaskeopløsning
	Μηδενικός βαθμονομητής	Nul-kalibrator
	Βαθμονομητής #	Kalibrator nr.
	Ορός ελέγχου #	Kontrol nr.
	Ιχνηθέτης	Markør
	Ιχνηθέτης	Markør
	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης	Koncentreret markør
	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης	Koncentreret markør
	Σοληνάρια	Tuber
	Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης	Inkubationsbuffer
	Ακετονιτρίλιο	Acetonitril
	Ορός	Serum
	Διάλυμα αραίωσης δειγμάτων	Prøvediluent
	Ρυθμιστικό διάλυμα αραίωσης	Fortyndingsbuffer
	Αντιορός	Antiserum
	Ανοσοπροσροφητικό	Immonoadsorbent
	Αραιωτικό βαθμονομητών	Kalibratordiluent
	Διάλυμα ανασύστασης	Rekonstitueringsopløsning
	Πολυαιθυλενογλυκόλη	Polyetylenglykol
	Διάλυμα εκχύλισης	Ekstraktionsopløsning
	Διάλυμα έκλουσης	Elueringsopløsning
	Φύσιγγες πυριτίου Bond Elut	Patroner med bindingselueringssilica
	Διάλυμα προεπεξεργασίας	Forbehandlingsopløsning
	Διάλυμα εξουδετέρωσης	Neutraliseringsopløsning
	Ρυθμιστικό διάλυμα	Markørbuffer
	Πλάκα μικροτιτλοδότησης	Mikrotiterplade
	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
	Ρυθμιστικό διάλυμα συζεύγματος	Konjugatbuffer
	Χρωμογόνος TMB	Kromogen TMB-koncentreret
	Διάλυμα χρωμογόνου TMB	Kromogen TMB-opløsning
	Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος	Substratbuffer
	Ανασχετικό αντιδραστήριο	Stopopløsning
	Ορός επώασης	Inkubationsserum
	Ρυθμιστικό διάλυμα	Buffer
	AP Σύζευγμα	AP-konjugat
	PNPP υποστρώματος	Substrat PNPP
	Συμπυκνωμένο αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat koncentrat
	Συμπυκνωμένο διάλυμα αβιδίνης-HRP	Avidin HRP koncentrat
	Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού	Prøvebuffer
	αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat
	Ειδικό Αντίσωμα	-
	Συμπυκνωμένη στρεπταβιδίνη συνεξευγμένη με HRP	-
	μη-ειδική δέσμευση	-
	2ο Αντίσωμα	-
	Ρυθμιστικό Διάλυμα όξινο	-

	<u>Stosowane symbole</u>	<u>Használt szimbólumok</u>
	Przed zastosowaniem zapoznać się z instrukcją	Olvassa el a használati útmutatót
	Temperatura przechowywania	Tárolási hőmérséklet
	Zużyć przed	Lejáratí idő
	Kod serii	Gyártási kód
	Numer katalogowy	Katalógus szám
	Kontrola	Kontrol
	Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro	In vitro diagnosztikai eszköz
	Producent	Gyártó
	Zawartość wystarczająca do <n> testów	Tartalma <n> teszt elvégzésére elegendő
	Roztwór płuczący stężony	Mosó folyadék koncentrátum
	Kalibrator zerowy	Zero kalibrátor
	Kalibrator nr	Kalibrátor #
	Kontrola nr	Kontrol #
	Znacznik izotopowy	Nyomjelző izotóp
	Znacznik izotopowy	Nyomjelző izotóp
	Znacznik izotopowy stężony	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Znacznik izotopowy stężony	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Probówki	Csővek
	Wymagana inkubacja buforu	Inkubáló puffer
	Acetonitryl	Acetonitril
	Surowica	Szérum
	Rozcieńczalnik próbki	Mintahígító
	Bufor do rozcieńczania	Hígító puffer
	Antysurowica	Antiszérum
	Immunoabsorbent	Immunszorbens
	Rozcieńczalnik kalibratora	Kalibrátor hígító
	Roztwór do rozcieńczania	Mintaelőkészítő oldat
	Glikol poli(oksy)etylenowy	Polietilén glikol
	Roztwór ekstrakcyjny	Extrakciós oldat
	Roztwór elucyjny	Eluáló oldat
	Kolumny krzemionkowe Bond Elut	Bond Elut Silica szilikagél patronok
	Roztwór do przygotowania wstępnego	Előkezelő oldat
	Roztwór neutralizujący	Semlegesítő oldat
	Bufor znacznika	Nyomjelző izotóp hígító puffer
	mikro płytki	Mikrotiter lemez
	Koniugat peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum
	Koniugat peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum
	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum koncentrátum
	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum koncentrátum
	Bufor do koniugacji	Konjugátum puffer
	Koncentrat chromogenu TMB (czterometylobenzodyny)	Kromogén TMB koncentrátum
	Roztwór chromogenu TMB (czterometylobenzodyny)	Kromogén TMB oldat
	Bufor substratu	Szubsztrát puffer
	Roztwór zatrzymujący reakcję	Stop oldat
	Wymagana inkubacja surowicy	Inkubációs szérum
	Bufor	Puffer
	Koniugat AP (fosfatazy alkalicznej)	AP konjugátum
	p-nitrofenylofosforan substratowy	Szubsztrát PNPP
	Koncentrat koniugatu biotyny	Biotin konjugátum koncentrátum
	Koncentrat peroksydazy chrzanowej z awidyną	Avidin HRP koncentrátum
	Bufor do oznaczania	Vizsgálati puffer
	Koniugatu biotyny	Biotin konjugátum
	Przeciwciało swoiste	Specifikus ellenanyag
	Koncentrat streptawidyny HRP	Sztreptawidin HRP koncentrátum
	Wiązanie nieswoiste	Nem-specifikus kötődés
	Drugie przeciwciało	Másodlagos ellenanyag
	Bufor zakwaszający	Savas puffer

	<u>Използвани символи</u>
	Вижте инструкцията за работа
	Температура на съхранение
	Използвайте с
LOT	Партиден код
REF	Каталожен номер
CONTROL	Контрол
IVD	Ин витро диагностично медицинско изделие
	Производител
	Съдържание достатъчно за <n> теста
WASH SOLN CONC	Концентриран измиващ разтвор
CAL 0	Нулев калибратор
CAL N	Калибратор #
CONTROL N	Контрол #
Ag 125I	Трейсър
Ab 125I	Трейсър
Ag 125I CONC	Концентриран маркер
Ab 125I CONC	Концентриран маркер
	Епруветки
INC BUF	Инкубационен буфер
ACETONITRILE	Ацетонитрил
SERUM	Серум
DIL SPE	Разредител за пробите
DIL BUF	Буфер за разреждане
ANTISERUM	Антисерум
IMMUNOABSORBENT	Имуноабсорбент
DIL CAL	Разредител за калибратора
REC SOLN	Пресъздаващ разтвор
PEG	Полиетилен гликол
EXTR SOLN	Екстрактов разтвор
ELU SOLN	Разтвор за елюиране
GEL	Силикагелни пълнители
PRE SOLN	Пред-лечебен разтвор
NEUTR SOLN	Неутрализиращ разтвор
TRACEUR BUF	Маркерен буфер
	Микротитърна пластина
Ab HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ag HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ab HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
Ag HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
CONJ BUF	Буфер за конюгата
CHROM TMB CONC	Хромогенен ТМВ концентрат
CHROM TMB	Хромогенен ТМВ разтвор
SUB BUF	Субстратен буфер
STOP SOLN	Стоп разтвор
INC SER	Инкубационен серум
BUF	Буфер
Ab AP	AP конюгат / конюгат на алкална фосфатаза
SUB PNPP	Субстрат PNPP / пара нитрофенил фосфат
BIOT CONJ CONC	Биотин конюгиран концентрат
AVID HRP CONC	Авидин HRP концентрат
ASS BUF	Буфер за пробите
Ab BIOT	Биотин конюгат
Ab	специфично антитяло
SAV HRP CONC	стрептавидин HRP концентрат
NSB	не специфично свързване
2nd Ab	второ антитяло
ACID BUF	киселинизиращ буфер