



# ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

## TABLE OF CONTENTS

English . . . . .	2	Slovenčina (SK) . . . . .	34
Français (FR) . . . . .	5	한국어 (KO) . . . . .	37
Deutsch (DE) . . . . .	8	Türkçe (TR) . . . . .	39
Italiano (IT) . . . . .	11	Русский (RU) . . . . .	42
Español (ES) . . . . .	14	中文 (ZH-TW) . . . . .	45
Português Portugal (PT-PT) . . . . .	17	Србија (SR) . . . . .	47
Svenska (SV) . . . . .	20	Português Brasil (PT-BR) . . . . .	50
Ελληνικά (EL) . . . . .	23	APPENDIX . . . . .	53
中文 (ZH-CN) . . . . .	26	REFERENCES . . . . .	56
Polski (PL) . . . . .	28		
Čeština (CZ) . . . . .	31		

Immunotech s.r.o. ( 贝克曼库尔特公司分公司 )  
代为 Beckman Coulter, Inc. 生产  
Radiova 1  
102 27 Prague 10  
The Czech Republic  
电话 : + 420 272 017 444

Beckman Coulter do Brasil Com. e Imp. de Prod. de Lab. Ltda  
Alameda Rio Negro, 500, 15º andar, Torre B Alphaville Industrial  
CEP 06.454-00 Barueri, São Paulo, Brasil  
CNPJ: 42.160.812/0001-44 Telefone: 0800-771-8818

ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.  
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com



IMMUNOTECH s.r.o., Radiova 1, 102 27 Prague 10, Czech Republic

# ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

## RADIOIMMUNOASSAY FOR THE QUANTITATIVE MEASUREMENT OF FREE TESTOSTERONE IN HUMAN SERUM

**THIS ASSAY IS INTENDED FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE**

### PRINCIPLE

The radioimmunoassay of free testosterone is a competitive assay. The procedure follows the basic principle of radioimmunoassay where there is competition between a radioactive and a non-radioactive antigen for a fixed number of antibody binding sites [1]. The amount of [<sup>125</sup>I]-labeled testosterone analog bound to the antibody is inversely proportional to the concentration of unlabeled free testosterone present. The separation of the free and bound antigen is achieved by decanting or aspirating the antibody-coated tubes. A standard curve is constructed and unknown free testosterone values are obtained from the curve by interpolation.

*For Summary and Explanation of the Test see APPENDIX.*

### WARNING AND PRECAUTIONS

#### General remarks:

- For *in vitro* diagnostic use.
- The vials with calibrators and controls should be opened as shortly as possible to avoid excessive evaporation.
- Do not mix the reagents from kits of different lots.
- Do not use any component beyond the expiration date shown on its label.
- A standard curve must be established with each assay.
- It is recommended to perform the assay in duplicate.
- Calibrators and controls should be mixed before use by inverting or swirling gently rather than vortexing.

#### Basic rules of radiation safety

The purchase, possession, utilization, and transfer of radioactive material are subject to the regulations of the country of use. Adherence to the basic rules of radiation safety should provide adequate protection:

- No eating, drinking, smoking or application of cosmetics should take place in the presence of radioactive materials.
- No pipeting by mouth.
- Avoid all contact with radioactive materials by using gloves and lab coat.
- All manipulation of radioactive substances should be done in an appropriate location, away from corridors and other busy areas.
- Radioactive materials should be stored in the container provided and in a designated area.
- A record of receipt and storage of all radioactive products should be kept up to date.
- Laboratory equipment and glassware which are subject to contamination should be segregated to prevent cross-contamination of different radioisotopes.
- Each case of radioactive contamination or loss of radioactive material should be resolved according to established procedures.
- Radioactive waste should be handled according to the rules established in the country of use.

#### Sodium azide

Some reagents contain sodium azide as preservative. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal of liquids, flush with a large volume of water to prevent azide build-up [2].

#### Materials of human origin

Patient samples and blood-derived products may be routinely processed with minimum risk using the procedure described. However, handle these products as potentially infectious according to universal precautions and good clinical laboratory practices, regardless of their origin, treatment, or

prior certification. Use an appropriate disinfectant for decontamination. Store and dispose of these materials and their containers in accordance with local regulations and guidelines.

### GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

**SDS**

Safety Data Sheet is available at [techdocs.beckmancoulter.com](http://techdocs.beckmancoulter.com)

### SPECIMEN COLLECTION, PROCESSING, STORAGE AND DILUTION

- Serum is the recommended sample type.
- Allow serum samples to clot completely before centrifugation.
- Serum samples may be stored at 2-8°C, if the assay is to be performed within 24 hours. For longer storage keep frozen at < -20°C up to 2 months [3]. It is recommended to prepare aliquots to avoid repeated freezing and thawing. Thawing of sample should be performed at room temperature.
- Frozen samples should be thawed and mixed thoroughly by gentle swirling or inversion prior to use.
- Any sample reading above the concentration of the highest calibrator should not be diluted. Dilution will change the proportion of free to bound testosterone.

### MATERIALS PROVIDED

All unopened reagents in the kit are stable until the expiration date indicated on the kit label, when stored at 2-8°C. Expiry dates printed on vial labels apply to the long-term storage of components by the manufacturer only, prior to assembly of the kit. Do not take into account.

Storage conditions for opened reagents are indicated in appropriate paragraphs.

#### Free Testosterone Antibody-Coated Tubes: 2 x 50 tubes (ready-to-use)

Plastic tubes with rabbit anti-testosterone immunoglobulin immobilized to the inside wall of each tube.

#### <sup>125</sup>I-labeled Testosterone Analog Tracer (YELLOW): one 22 mL vial (ready-to-use)

At the time of manufacture, the vial contains 185 kBq, (<5 µCi), of <sup>125</sup>I-labeled testosterone analog in buffer with proteins (BSA), sodium azide (<0.1%) and a dye.

#### Calibrators: one 1.0 mL vial labeled 0, and seven 0.5 mL vials labeled 1-7 (ready-to-use)

The calibrator vials contain from 0 to approximately 100 pg/mL (0 to approximately 346.7 pmol/L) of free testosterone in human serum with sodium azide (< 0.1%). The exact concentration is indicated on each vial label. Once opened, store at 2-8°C for up to 3 weeks, or at < -20°C until expiration date of kit. The calibrator values were established using an internal standard.

#### Controls: two 0.5 mL vials labeled 1, 2 (ready-to-use)

The vials contain free testosterone in human serum with sodium azide (<0.1%). The expected values are in the concentration range indicated in a supplement found in the kit. Once opened, store at 2-8°C for up to 3 weeks, or at < -20°C until expiration date of kit.

### MATERIALS REQUIRED, BUT NOT PROVIDED

In addition to standard laboratory equipment, the following items are required:

- 12 x 75 mm plastic or glass test tubes for total counts.
- Test tube rack for 12 x 75 mm tubes.
- Precision micropipet (50 µL).
- Semi-automatic pipet (200 µL, 3.0 mL).
- Deionized water.
- Vortex mixer.
- Temperature-controlled water bath, 37°C ± 2°C.
- A sponge rack or similar device for decantation.
- Absorbent material for blotting tubes.
- Gamma counter set for 125 iodine.

## PROCEDURE

### Preparation of reagents

Let all the reagents come to room temperature and mix them thoroughly by gentle inversion before use.

### Assay procedure

Run calibrators, controls and patient samples in duplicate.

Step 1 Additions	Step 2 Incubation & Washing	Step 3 Washing & Counting
To the bottom of antibody coated tubes successively add:	Cover and incubate 60 min in a water bath at $37 \pm 2^\circ\text{C}$ .	Decant all tubes, (except «total cpm» tubes), by simultaneous inversion with a sponge rack into a radioactive waste receptacle.
50 $\mu\text{L}$ of calibrator, control or sample, immediately add 200 $\mu\text{L}$ of tracer.*	Decant all tubes, (except «total cpm» tubes), by simultaneous inversion with a sponge rack into a radioactive waste receptacle.	Strike the tubes sharply on absorbent material to facilitate complete drainage.
Mix by vortex.	Strike the tubes sharply on absorbent material to facilitate complete drainage.	Drain on absorbent material for a minimum of 2 minutes. Blot droplets from the rims of tubes.
	Add 3.0 mL of deionized water to all tubes, except «total cpm» tubes.	Count bound cpm (B) and total cpm (T) for 1 minute.

\*Add 200  $\mu\text{L}$  of tracer to 2 additional tubes to obtain «total cpm».

## RESULTS

Results are obtained from the standard curve by interpolation. The curve is used for the determination of free testosterone concentrations in samples measured at the same time as the calibrators.

### Standard curve

The results in the quality control department were calculated using *spline* curve fit with  $B/T$  or  $B/B_0$  on the lin vertical axis and analyte concentration of the calibrators on the log horizontal axis (pg/mL).

Other data reduction methods may give slightly different results.

$ED_{50} = 3.710 \text{ pg/mL}$

Total activity: 62,502 cpm				
Calibrators	Free testosterone (pg/mL)	cpm (n=2)	B/T (%)	B/B <sub>0</sub> (%)
0	0	28,056	44.89	100.0
1	0.23	23,889	38.22	85.15
2	0.90	18,675	29.88	66.56
3	2.80	15,016	24.03	53.52
4	9.50	10,466	16.75	37.30
5	26.00	6,682	10.69	23.82
6	50.00	4,466	7.15	15.92
7	100.0	2,989	4.78	10.66

(Example of standard curve, do not use for calculation)

### Samples

For each sample locate the ratio  $B/T$  or  $B/B_0$  on the vertical axis of the standard curve and read off the corresponding free testosterone concentration of the sample on the horizontal axis in pg/mL.

To convert concentrations from pg/mL to pmol/L, multiply results by 3.47.

## EXPECTED VALUES

Each laboratory should establish its own reference ranges. The following values were obtained using serum samples from apparently normal healthy adults.

Men (Age in years)	n	Median (pg/mL)	Min (pg/mL)	Max (pg/mL)	2.5 <sup>th</sup> Percentile (pg/mL)	97.5 <sup>th</sup> Percentile (pg/mL)
20 - 29	30	15.40	7.54	27.79	8.68	25.09
30 - 39	30	14.94	6.77	22.36	8.85	21.40
40 - 49	30	11.48	7.37	20.47	7.56	18.64
50 and above	30	9.05	4.52	15.05	5.72	14.21
All	120	12.35	4.52	27.79	6.76	22.76

Women	n	Median (pg/mL)	Min (pg/mL)	Max (pg/mL)	2.5 <sup>th</sup> Percentile (pg/mL)	97.5 <sup>th</sup> Percentile (pg/mL)
Follicular Phase	32	1.48	0.59	4.28	0.64	3.41
Luteal Phase	32	1.44	0.59	3.31	0.60	2.95
Preovulatory Peak	21	1.51	0.81	3.79	0.90	3.79
Postmenopausal	13	1.17	0.33	1.97	0.36	1.85
Contraceptives	19	1.45	0.49	2.81	0.57	2.70

Random women	n	Median (pg/mL)	Min (pg/mL)	Max (pg/mL)	2.5 <sup>th</sup> Percentile (pg/mL)	97.5 <sup>th</sup> Percentile (pg/mL)
All	120	1.29	0.33	4.28	0.49	2.87

Detail information about expected values for children (sorted according to age and sex) can be found in the data sheet "APPENDIX".

## QUALITY CONTROL

Good laboratory practices require that control samples be used regularly to ensure the quality of the results obtained. These controls must be processed in exactly the same way as the patient samples, and it is recommended that their results be analyzed using appropriate statistical methods.

Failure to obtain the appropriate values for controls may indicate imprecise manipulations, improper sample handling or deterioration of reagents. In case of packaging deterioration or if data obtained show some performance alteration, please contact your local distributor or [imunochem@beckman.com](mailto:imunochem@beckman.com).

In the US, contact the Beckman Coulter technical support at 1-800-854-3633; or by email at: [immunoassay@beckman.com](mailto:immunoassay@beckman.com)

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

(For more details, see APPENDIX)

Representative data are provided for illustration only. Performance obtained in individual laboratories may vary.

### Sensitivity

Limit of detection (LoD): 0.13 pg/mL

The LoD for free testosterone is 0.13 pg/mL, determined consistent with guidelines in CLSI document EP17-A2 [4] based on the proportions of false positives ( $\alpha$ ) less than 5% and false negatives ( $\beta$ ) less than 5%; using determinations, with 120 blank and 120 low level samples; and Limit of Blank (LoB) of 0.05 pg/mL.

Limit of quantitation (LoQ): 0.37 pg/mL

The LoQ for Free Testosterone is 0.37 pg/mL, determined consistent with guidelines in CLSI document EP17-A2 [4] as the lowest concentration where criterion for maximum total error was achieved.

### Specificity

The antibody used in the immunoassay is highly specific for free testosterone. Low cross reactivities were obtained against several related molecules.

### Precision

#### Repeatability and within-laboratory precision

The precision of the assay was determined consistent with guidelines in CLSI document EP05-A3 [5]. For repeatability the coefficients of variation were found below or equal to 13.2% for serum samples. For within laboratory precision the coefficients of variation were found below or equal to 19.3% for serum samples.

### Accuracy

#### Linearity

The assay demonstrated to be linear from 0.30 to 114.11 pg/mL using serum samples (determined consistent with guidelines in CLSI document EP6-A [6]).

Measurement range (from LoQ to the highest calibrator):

0.37 pg/mL to approximately 100 pg/mL

## LIMITATIONS

- Failure to follow these instructions for use (IFU) may significantly affect results.
  - Failure to blot tubes adequately following decantation may result in poor replication and spurious results.
  - Results should be interpreted in the light of the total clinical presentation of the patient, including clinical history, data from additional tests and other appropriate information.
  - Avoid repeated freezing and thawing of reagents or specimens.
  - For more details, see the data sheet "APPENDIX".
- The possibility exists for interference by heterophile antibodies in the patient sample. Patients who have been regularly exposed to animals or have received immunotherapy or diagnostic procedures utilizing immunoglobulins or immunoglobulin fragments may produce antibodies, e.g. HAMA, that interfere with immunoassays. Such interfering antibodies may cause erroneous results. Carefully evaluate the results of patients suspected of having these antibodies.
-

# ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

## TROUSSE RADIOIMMUNOLOGIQUE POUR LE DOSAGE QUANTITATIF DE LA TESTOSTERONE LIBRE DANS LE SERUM HUMAIN CE DOSAGE A ETE CONÇU POUR USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO

### PRINCIPE

Le dosage radio immunologique de la testostérone libre est un dosage par compétition. La procédure suit le principe de base de l'immunodosage selon lequel des antigènes radioactifs et non radioactifs entrent en compétition pour un nombre fixe de sites de liaison d'anticorps [1]. La quantité d'analogue de testostérone marquée à [<sup>125</sup>I] liée à l'anticorps est inversement proportionnelle à la concentration en testostérone libre non marquée présente. La séparation des antigènes libres et des antigènes liés se fait par décantation ou aspiration des tubes revêtus d'anticorps. Une courbe d'étalonnage est établie. Les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de cette courbe.

Pour Résumé et explication du test voir APPENDIX.

### AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

#### Précautions générales

- Pour un usage diagnostique *in vitro*.
- Les flacons de calibrateurs et de contrôles doivent être ouverts des temps aussi courts que possible afin d'éviter une évaporation trop importante.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents.
- N'utilisez aucun des composants au-delà de la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Effectuer simultanément la courbe standard et le dosage des échantillons.
- Il est recommandé de réaliser les dosages en double.
- Avant leur emploi, standards et contrôles doivent être mélangés par inversion ou en les faisant tourbillonner doucement plutôt que par vortex.

#### Les règles de bases de la radio protection

L'achat, la possession, l'utilisation et l'échange de matières radioactives sont soumis aux réglementations en vigueur dans le pays de l'utilisateur. L'application des règles de base de protection contre les rayonnements ionisants assure une protection adéquate.

- Ne pas manger, ni boire, ni fumer, ni appliquer de cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés.
- Pipetage à la bouche interdit.
- Éviter le contact direct avec tout produit radioactif en utilisant des blouses et des gants de protection.
- Toute manipulation de matières radioactives se fera dans un local approprié, éloigné de tout passage.
- Les produits radioactifs seront stockés dans leur conditionnement d'origine et dans un local approprié.
- Un cahier de réception et de stockage de produits radioactifs sera tenu à jour.
- Le matériel de laboratoire et la verrerie qui ont été contaminés doivent être éliminés au fur et à mesure afin d'éviter une contamination croisée de plusieurs isotopes.
- Chaque cas de contamination ou perte de substance radioactive devra être résolu selon les procédures établies.
- Toute mise aux déchets de matière radioactive se fera en accord avec les règlements en vigueur.

#### Azide de sodium

Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium comme agent conservateur. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb, le cuivre et le laiton, et former des azides métalliques explosifs. Lors du rejet de telles solutions à l'évier, laisser couler un volume important d'eau dans les canalisations [2].

#### Les produits d'origine humaine

Les échantillons de patients et les produits dérivés du sang peuvent être traités en routine avec un risque minimum si la procédure décrite est respectée. Cependant, manipuler ces produits comme s'ils étaient potentiellement infectieux en suivant les précautions universelles et les bonnes pratiques de laboratoire, quels que soient leur origine, leur traitement ou leur certification antérieure. Utiliser un désinfectant approprié pour la décontamination. Conserver et éliminer ces produits et leurs récipients en suivant les règlements et les procédures locales.

### CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux



La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse [techdocs.beckmancoulter.com](http://techdocs.beckmancoulter.com)

### PRELEVEMENT, PREPARATION, CONSERVATION ET DILUTION DES ECHANTILLONS

- Recueillir le sang dans des tubes secs sans additif.
- Pour les sérums, laisser les échantillons coaguler complètement avant la centrifugation.
- Les échantillons sériques peuvent être conservés à 2-8 °C si le dosage est réalisé dans les 24 heures. Sinon, il est préférable de les conserver congelés (< -20 °C) jusqu'à 2 mois [3] et de préférence aliquotés, afin d'éviter les congélations et décongélations successives.
- Les spécimens congelés doivent être décongelés et bien mélangés par tourbillon ou inversion douce avant leur emploi.
- Tout résultat d'échantillon supérieur au calibrateur le plus élevé ne devra pas être dilué. La dilution modifierait la proportion entre testostérone libre et liée.

### MATÉRIEL FOURNI

Tous les réactifs de la trousse conservés à 2-8 °C sont stables, jusqu'à la date de péremption mentionnée sur la trousse. Les dates d'expiration imprimées sur les étiquettes des flacons concernent uniquement le stockage à long terme des réactifs par le fabricant, avant l'assemblage de la trousse. Ne pas en tenir compte.

Les conditions de conservation des réactifs ouverts sont indiquées dans les paragraphes appropriés.

**Tubes revêtus d'anticorps anti testostérone : 2 x 50 tubes** (prêts à l'emploi)

Les tubes en polystyrène contenant de l'immunoglobuline de lapin anti-testostérone immobilisée sur la paroi interne de chaque tube.

**Traceur testostérone analogue marqué à l'iode <sup>125</sup> (JAUNE) : 1 flacon de 22 mL** (prêt à l'emploi)

Le flacon contient 185 kBq (<5 µCi), en début de lot, de analogue de testostérone marqué à l'iode <sup>125</sup> dans un tampon protéique (BSA), de l'azide de sodium (<0,1 %) et un colorant.

**Calibrateurs : 1 flacon de 1,0 mL marqué 0 + 7 flacons de 0,5 mL marqués 1-7**, (prêts à l'emploi)

Les flacons de calibrateur contiennent entre 0 à environ 100 pg/mL (0 à environ 346,7 pmol/L) de la testostérone libre dans du sérum humain avec de l'azide de sodium (< 0,1 %). La concentration exacte est indiquée sur chaque flacon. Entreposer les flacons ouverts entre 2-8 °C jusqu'à trois semaines. Pour des périodes plus longues, congeler à -20 °C ou plus bas jusqu'à la date d'expiration de la trousse. Les calibrateurs sont validés sur un standard interne de référence.

**Contrôles : 2 flacons de 0,5 mL, marqués 1,2** (prêts à l'emploi)

Les flacons contiennent de la testostérone libre, dans du sérum humain en présence d'azide de sodium (<0,1 %). Les valeurs attendues sont comprises dans la fourchette de concentrations indiquée sur le supplément. Entreposer les flacons ouverts entre 2-8 °C jusqu'à trois semaines. Pour des périodes plus longues, congeler à -20 °C ou plus bas jusqu'à la date d'expiration de la trousse.

### MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

En plus de l'équipement de laboratoire usuel, il est nécessaire d'utiliser le matériel suivant :

- tubes à essai en plastique ou en verre de 12 x 75 mm, pour l'activité totale,

- Support pour tubes à essai de 12 x 75 mm
- Micropipette de précision (50 µL).
- pipette semi-automatique (200 µL, 3,0 mL),
- Eau déionisée.
- Agitateur vortex.
- bain-marie à 37 ± 2 °C,
- Support en éponge ou appareil semblable pour décantation
- Matériel absorbant pour éponger les tubes
- Compteur gamma calibré pour l'iode 125.

Activité totale : 62 502 cpm				
Calibrateurs	Testostérone libre (pg/mL)	cpm (n=2)	B/T (%)	B/B <sub>0</sub> (%)
0	0	28 056	44,89	100,0
1	0,23	23 889	38,22	85,15
2	0,90	18 675	29,88	66,56
3	2,80	15 016	24,03	53,52
4	9,50	10 466	16,75	37,30
5	26,00	6 682	10,69	23,82
6	50,00	4 466	7,15	15,92
7	100,0	2 989	4,78	10,66

(Exemple de courbe standard, ne pas utiliser pour les calculs)

## PROCÉDURE

### Préparation des réactifs

Equilibrer les réactifs à température ambiante et mélanger avant usage en les inversant ou en les faisant tourbillonner doucement.

### Mode opératoire

Les calibrateurs, contrôles et échantillons inconnus devront être dosés en deux exemplaires.

Étape 1 Répartition	Étape 2 Incubation & Lavage	Étape 3 Lavage & Comptage
<p>Au fond des tubes revêtus, distribuer successivement :</p> <p>50 µL de calibrateur, de contrôle ou d'échantillon, immédiatement 200 µL de traceur.</p> <p>Agiter au Vortex.</p>	<p>Couvrir et incuber 60 minutes au bain-marie à 37± 2 °C.</p> <p>Décanté tous les tubes, par inversion simultanée avec une claie en éponge dans un récipient à déchets radioactifs. (sauf les 2 tubes «cpm totaux»).</p> <p>Frapper vigoureusement les tubes sur un buvard pour faciliter l'égouttage complet.</p> <p>Ajouter 3,0 mL d'eau désionisée à chaque tube, excepté les tubes d'activité totale.</p>	<p>Décanté tous les tubes, par inversion simultanée avec une claie en éponge dans un récipient à déchets radioactifs. (sauf les 2 tubes «cpm totaux»).</p> <p>Frapper vigoureusement les tubes sur un buvard pour faciliter l'égouttage complet.</p> <p>Laisser égoutter sur du matériel absorbant pendant 2 minutes et éponger doucement les tubes. Frotter rebord des tubes.</p> <p>Compter les cpm liés (B) et les cpm totaux (T) pendant 1 min.</p>

\*Ajouter 200 µL de tracer dans 2 tubes supplémentaires pour obtenir les «cpm totaux».

## RÉSULTATS

Les résultats sont déduits de la courbe standard par interpolation. La courbe sert à déterminer les taux de la testostérone libre de tous les échantillons mesurés en même temps que les calibrateurs.

### Courbe standard

Les résultats obtenus par le service chargé du contrôle de qualité ont été calculés en utilisant un ajustement de courbe *spline* avec B/T ou B/B<sub>0</sub> sur l'axe vertical lin et la concentration en analyte des calibrateurs sur l'axe horizontal log (pg/mL).

L'utilisation d'un autre mode de calcul peut conduire à des résultats légèrement différents.

ED<sub>50</sub> = 3,710 pg/mL

### Echantillons

Pour chaque échantillon, repérer le rapport B/T ou B/B<sub>0</sub> sur l'axe vertical, puis le point correspondant de la courbe standard et en déduire par lecture sur l'axe horizontal la concentration de la testostérone libre d'échantillon en pg/mL.

Pour convertir des concentrations de pg/mL en pmol/L, multipliez les résultats par 3,47.

## VALEURS ATTENDUES

Chaque laboratoire devra établir ses propres valeurs attendues en fonction de la population clinique à qui elles sont destinées. Les valeurs qui suivent ont été obtenues à partir d'échantillons de sérum prélevés sur des adultes apparemment sains.

Hommes (âge en années)	n	Médian (pg/mL)	Min. (pg/mL)	Max. (pg/mL)	2,5 <sup>e</sup> percentile (pg/mL)	97,5 <sup>e</sup> percentile (pg/mL)
20 - 29	30	15,40	7,54	27,79	8,68	25,09
30 - 39	30	14,94	6,77	22,36	8,85	21,40
40 - 49	30	11,48	7,37	20,47	7,56	18,64
50 et plus	30	9,05	4,52	15,05	5,72	14,21
Tous	120	12,35	4,52	27,79	6,76	22,76

Femmes	n	Médian (pg/mL)	Min. (pg/mL)	Max. (pg/mL)	2,5 <sup>e</sup> percentile (pg/mL)	97,5 <sup>e</sup> percentile (pg/mL)
Phase folliculaire	32	1,48	0,59	4,28	0,64	3,41
Phase lutéale	32	1,44	0,59	3,31	0,60	2,95
Phase périovulatoire	21	1,51	0,81	3,79	0,90	3,79
Ménopause	13	1,17	0,33	1,97	0,36	1,85
Contraceptifs	19	1,45	0,49	2,81	0,57	2,70

Échantillon aléatoire de femmes	n	Médian (pg/mL)	Min. (pg/mL)	Max. (pg/mL)	2,5 <sup>e</sup> percentile (pg/mL)	97,5 <sup>e</sup> percentile (pg/mL)
Tous	120	1,29	0,33	4,28	0,49	2,87

Les renseignements détail de valeur attendue pour les enfants (diviser par l'âge et l'âge) est dans la feuille « APPENDIX ».

## CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les bonnes pratiques de laboratoire impliquent que des échantillons de contrôle soient utilisés dans chaque série de dosage pour s'assurer de la qualité des résultats obtenus. Ces échantillons devront être traités de la même façon que les prélèvements à doser et il est recommandé d'en analyser les résultats à l'aide de méthodes statistiques appropriées.

Si des valeurs appropriées ne sont pas obtenues pour les contrôles, cela indique peut-être qu'il y a eu des managements imprécis, une mauvaise manipulation des échantillons ou une altération des réactifs. En cas de détérioration de l'emballage ou si les résultats obtenus montrent une perte de performance du produit, veuillez contacter notre service Support Technique E-mail : [imunochem@beckman.com](mailto:imunochem@beckman.com)

## PERFORMANCES DU DOSAGE

(voir la feuille "APPENDIX" pour plus de détails)

Les données représentatives ne sont fournies qu'à titre d'illustration. Les performances obtenues dans les laboratoires individuels peuvent varier.

### Sensibilité

Limite de détection: 0,13 pg/mL

La LoD pour la testostérone libre est de 0,13 pg/mL, ce qui a été déterminé conforme aux consignes du document du CLSI EP17-A2 [4] sur la base

de proportions de faux positifs ( $\alpha$ ) inférieures à 5 % et de faux négatifs ( $\beta$ ) inférieures à 5 % ; en utilisant les déterminations de 120 échantillons à blanc et de 120 échantillons de faible concentration ; et une limite du blanc (LoB) de 0,05 pg/mL.

**Limite de quantification (LoQ) :** 0,37 pg/mL

La LoQ de la testostérone libre est de 0,37 pg/mL, ce qui a été jugé conforme aux consignes du document du CLSI EP17-A2 [4] comme étant la concentration la plus faible à laquelle a été atteint le critère de l'erreur totale maximale.

#### **Spécificité**

L'anticorps utilisé dans l'immunodosage est hautement spécifique à la testostérone libre. De faibles transréactivités ont été obtenues par rapport à plusieurs autres molécules apparentées.

#### **Précision**

##### **Répétabilité et précision intra-laboratoire**

La précision du dosage a été déterminée conformément aux lignes directrices du document du CLSI EP05-A3 [5]. Pour ce qui est de la répétabilité, les coefficients de variation déterminés se sont avérés inférieurs ou égaux à 13,2 % pour les échantillons de sérum. Pour ce qui est de la précision intra-laboratoire, les coefficients de variation déterminés se sont avérés inférieurs ou égaux à 19,3 % pour les échantillons de sérum.

#### **Exactitude**

##### **Linéarité**

Le dosage s'est montré linéaire de 0,30 à 114,11 pg/mL à l'aide d'échantillons de sérum (ce qui a été jugé conforme aux consignes du document du CLSI EP6-A [6]).

**Plage de mesure** (de la LoQ au calibrateur le plus élevé) :

0,37 pg/mL à environ 100 pg/mL

## **LIMITES**

- Le non-respect des recommandations indiquées dans cette notice peut avoir un impact significatif sur les résultats.
- Si les tubes ne sont pas épongés correctement après la décantation, cela peut entraîner des valeurs fausses et des répétitions médiocres.
- Les résultats doivent être interprétés à la lumière du dossier clinique complet du patient, incluant l'historique clinique et les données de tests additionnels et toute autre information appropriée.
- Évitez la congélation et la décongélation répétées des réactifs ou des échantillons.
- Voir la feuille "APPENDIX" pour plus de détails.
- Pour les tests employant des anticorps, il existe la possibilité d'une interférence par des anticorps hétérophiles présents dans l'échantillon du patient. Les patients qui ont été régulièrement exposés à des animaux ou qui ont reçu une immunothérapie ou qui ont subi des procédures diagnostiques utilisant des immunoglobulines ou des fragments d'immunoglobulines peuvent produire des anticorps, par exemple des anticorps HAMA (anticorps humains anti-souris), qui interfèrent avec les tests immunologiques. Ces anticorps qui interfèrent peuvent être la cause de résultats erronés. Évaluer avec précaution les résultats de patients suspectés de posséder ces anticorps.

# ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

## RADIOIMMUNOASSAY FÜR DIE QUANTITATIVE BESTIMMUNG VON FREIEM TESTOSTERON IN HUMANEM SERUM DIESER ASSAY IST ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT

### PRINZIP

Der Assay für die Bestimmung von freiem Testosteron ist ein radioimmunologischer, kompetitiver Assay. Dem Verfahren liegt das Grundprinzip eines Radioimmunoassays zugrunde, wobei radioaktive und nicht radioaktive Antigene um eine konstante Anzahl von Antikörper-Bindungsstellen konkurrieren [1]. Die an den Antikörper gebundene Menge des mit [<sup>125</sup>I] markierten Testosteron-Analogs ist umgekehrt proportional zur Konzentration des vorhandenen unmarkierten freien Testosterons. Die Trennung des freien und gebundenen Antigens wird durch Dekantieren oder Absaugen der mit Antikörpern beschichteten Röhrchen erreicht. Unbekannte Probenwerte werden durch Interpolation aus der Standardkurve bestimmt.

**Zusammenfassung und Erläuterung des Tests siehe "APPENDIX"**

### WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN Allgemeinhinweise:

- *In-vitro*-Diagnostikum.
- Die Kalibrator- und Kontrollfläschchen sollten so kurz wie möglich geöffnet werden, um eine übermäßige Verdunstung zu vermeiden.
- Reagenzien aus Kits von verschiedenen Produktionsserien sollten nicht miteinander vermischt werden.
- Keine Komponenten nach dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Eine Standardkurve ist für jeden Assay notwendig.
- Der Assay sollte in Doppelbestimmung durchgeführt werden.
- Kalibrator- und Kontrolllösungen sollten vor der Verwendung durch vorsichtiges Umdrehen oder Schwenken und nicht mit Hilfe eines Vortex-Mixers gemischt werden.

### Grundregeln der Handhabung von Radioaktivität

Annahme, Besitz und Verwendung, Lagerung, Transport und Beseitigung unterliegen den Vorschriften der Atomenergie- bzw. der jeweiligen staatlichen Behörde. Die Einhaltung der Grundregeln beim Umgang mit Radioaktivität sollte eine ausreichende Sicherheit gewährleisten:

- In Räumen, in denen mit radioaktiven Materialien gearbeitet wird, sollte Essen, Trinken, Rauchen und das Auftragen von Kosmetika vermieden werden.
- Kein Pipettieren im Mund.
- Jeglicher Kontakt mit radioaktiven Materialien muss durch Tragen von Handschuhen und Laborkittel vermieden werden.
- Das Arbeiten mit radioaktiven Stoffen muss in dafür speziell gekennzeichneten Bereichen, die vom normalen Laborbetrieb und von anderen beschäftigten Bereichen abgetrennt sind, erfolgen.
- Radioaktive Materialien müssen in einem speziell gekennzeichneten Bereich im bereitgestellten Behälter gelagert werden.
- Ein Register der Eingänge und Lagerung aller radioaktiven Produkte sollte ständig aktualisiert werden.
- Kontaminierte Labor- und Glasgeräte sollten isoliert werden, um eine Kreuzkontamination von verschiedenen Radioisotopen zu verhindern.
- Kontaminationen des Arbeitsplatzes müssen unverzüglich sorgfältig nach den üblichen Verfahren entfernt werden.
- Radioaktiver Abfall muss entsprechend den Richtlinien jedes Einsatzortes entsorgt werden.

### Natriumazid

Zur Vermeidung mikrobieller Kontamination enthalten einige Reagenzien Natriumazid. Natriumazid kann mit Blei, Kupfer oder Messing zu explosiven Metall-aziden reagieren. Um dies zu vermeiden, sollte bei einer Entsorgung über Rohrleitungen mit viel Wasser nachgespült werden [2].

### Bestandteile menschlichen Ursprungs

Patientenproben und aus Blut hergestellte Produkte können, wie in dieser Anleitung beschrieben, mit minimalem Risiko routinemäßig getestet werden. Diese Produkte sollten jedoch, ungeachtet ihrer Herkunft, Aufbereitung oder vorherigen Bescheinigung, wie potenziell infektiöses Material unter Beachtung allgemein anerkannter Vorsichtsmaßnahmen und der GLP-Richtlinien gehandhabt werden. Zur Dekontamination ist ein geeignetes Desinfektionsmittel zu verwenden. Diese Materialien und ihre Behälter sind nach den örtlichen Vorschriften und Richtlinien zu lagern und zu beseitigen.

### GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft

**SDS**

Das Sicherheitsdatenblatt ist auf [techdocs.beckmancoulter.com](http://techdocs.beckmancoulter.com) verfügbar.

### PROBENENTNAHME, -BEHANDLUNG, -LAGERUNG UND VERDÜNNUNG

- Sammeln Sie das Blut in Röhrchen ohne Zusätze.
- Serumproben vor dem Zentrifugieren vollständig gerinnen lassen.
- Die Proben können bei 2-8 °C bis zu 24 Stunden bzw. aliquotiert und tiefgekühlt bei < -20 °C bis zu 2 Monate [3] gelagert werden. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren sollte vermieden werden.
- Tiefgekühlte Proben sollten vor der Verwendung aufgetaut und durch vorsichtiges Drehen oder Umschwenken gründlich gemischt werden.
- Alle Proben mit Werten über dem höchsten Standard sollten NICHT verdünnt werden. Verdünnungen verändern das Verhältnis von freiem zu gebundenem Testosteron.

### MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Die Reagenzien sind verwendbar bis zum Verfallsdatum, wenn sie bei 2-8 °C gelagert werden. Auf die Fläschchen gedruckte Verfallsdaten betreffen nur die Langzeitlagerung beim Hersteller, vor der Zusammensetzung des Kits. Bitte nicht beachten.

Lagerungsbedingungen für geöffnete Reagenzien werden in den entsprechenden Abschnitten angegeben.

### Röhrchen mit Freiem Anti-Testosteron Antikörpern beschichtet: 2 x 50 Röhrchen (gebrauchsfertig)

Kunststoffröhrchen mit Kaninchen-anti-Testosteron-Immunglobulin, das an die Innenseite der Röhrchen gebunden ist.

### <sup>125</sup>I-markierter Testosteron-Analog Tracer (GELB): eine 22 mL Flasche (gebrauchsfertig)

Die Flasche enthält 185 kBq (<5 µCi), (am Tag der Herstellung) des <sup>125</sup>I-markierten Testosteron-Analogs in Puffer mit Proteinen (BSA), Natriumazid (<0,1 %) und einen Farbstoff.

### Kalibratoren: eine 1,0 mL Flasche, markiert 0, und sieben 0,5 mL Fläschchen, markiert 1 – 7 (gebrauchsfertig)

Die Kalibratorfläschchen enthalten freiem Testosteron von 0 bis ungefähr 100 pg/mL (0 bis ungefähr 346,7 pmol/L) in humanem Serum mit Natriumazid (< 0,1 %). Die genauen Konzentrationen sind auf jedem Fläschchen angegeben. Einmal geöffnete Fläschchen bei 2-8 °C bis zu drei Wochen oder längerfristig bei < -20 °C bis zum Verfallsdatum des Kits lagern. Die Kalibratoren wurden gegen einen internen Standard validiert.

### Kontrolle: zwei 0,5 mL Fläschchen, markiert 1, 2 (gebrauchsfertig)

Die Fläschchen enthalten freiem Testosteron in humanem Serum mit Natriumazid (<0,1 %). Der Konzentrationsbereich ist auf einem Beipackzettel angegeben. Einmal geöffnete Fläschchen bei 2-8 °C bis zu drei Wochen lagern, längerfristig bei < -20 °C bis zum Verfallsdatum des Kits.

### ERFORDERLICHE, JEDOCH NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Zusätzlich zu der Standardlaborausstattung, werden die folgenden Materialien benötigt:

- 12 x 75 mm Kunststoff- oder Glasröhrchen für die Totalaktivität.
- Röhrchenständer für 12 x 75 mm Röhrchen
- Präzisionspipette (50 µL).
- Halbautomatische Pipetten (200 µL und 3,0 mL).
- Deionisiertes Wasser



- Vortex-Rüttler
- Wasserbad mit  $37 \pm 2$  °C.
- Dekantierständer oder Ähnliches
- Saugfähiges Material zum Austropfen der Röhren
- Gamma-Counter für I-125.

## DURCHFÜHRUNG

### Präparation der Reagenzien

Die Reagenzien sollten Raumtemperatur haben und vor der Verwendung durch vorsichtiges Umdrehen gemischt werden.

### Testdurchführung

Kalibratoren, Kontrollen und Proben sollten als Doppelbestimmung durchgeführt werden.

Schritt 1 Zugabe	Schritt 2 Inkubation & Waschen	Schritt 3 Messung
Zugabe zu den beschichteten Röhren (in dieser Reihenfolge):  50 µL Kalibrator, Kontrolle oder Probe, unverzüglich 200 µL Tracer.*  Vorsichtig vortexen.	Im Wasserbad bei $37 \pm 2$ °C 60 Min. inkubieren.  Alle Röhren (außer Totalaktivität) durch Umdrehen in einen Behälter für radioaktiven Abfall dekantieren.  Die Röhren auf einer saugfähigen Unterlage kräftig ausklopfen, damit diese völlig entleert werden.  Die Röhren auf einer saugfähigen Unterlage kräftig ausklopfen, damit diese völlig entleert werden.  In alle Röhren, mit Ausnahme der Röhren zur Bestimmung der Totalaktivität, 3,0 mL deionisiertes Wasser geben.	Alle Röhren (außer Totalaktivität) durch Umdrehen in einen Behälter für radioaktiven Abfall dekantieren.  Die Röhren auf einer saugfähigen Unterlage kräftig ausklopfen, damit diese völlig entleert werden.  Die Röhren auf einer saugfähigen Unterlage kräftig ausklopfen, damit diese völlig entleert werden. Die Röhren auf einer saugfähigen Unterlage mindestens 2 Minuten austropfen lassen und einige Male ausklopfen, um alle am Rand haftenden Tröpfchen zu entfernen.  Gebundene cpm (B) und Totalaktivität (T) 1 min zählen.

\*Geben Sie je 200 µL Tracer in 2 zusätzliche Röhren, um die Totalaktivität zu erhalten.

## ERGEBNISSE

Die Ergebnisse werden aus der Standardkurve durch Interpolation ermittelt. Die Kurve kann für die Bestimmung der freien Testosteron-Konzentration in den Proben dienen, die zur gleichen Zeit wie die Standardkurve gemessen wurden.

### Standardkurve

Die Ergebnisse wurden in der Abteilung für Qualitätskontrolle anhand einer *Spline*-Kurvenanpassung mit *B/T* oder *B/B<sub>0</sub>* auf der linearen vertikalen Achse und der Analytkonzentration der Kalibratoren auf der logarithmischen horizontalen Achse berechnet (pg/mL).

Andere Datenreduktions-Methoden können zu leicht abweichenden Ergebnissen führen.

ED<sub>50</sub> = 3,710 pg/mL

Totalaktivität: 62 502 cpm				
Kalibratoren	F-Testosteron (pg/mL)	cpm (n=2)	B/T (%)	B/B <sub>0</sub> (%)
0	0	28 056	44,89	100,0
1	0,23	23 889	38,22	85,15
2	0,90	18 675	29,88	66,56
3	2,80	15 016	24,03	53,52
4	9,50	10 466	16,75	37,30
5	26,00	6 682	10,69	23,82
6	50,00	4 466	7,15	15,92
7	100,0	2 989	4,78	10,66

(Beispiel einer Standardkurve, nicht zur Berechnung benutzen)

### Proben

Für jede Probe wird der B/T oder B/B<sub>0</sub>-Wert auf der y-Achse aufgetragen und die entsprechende Freie Testosteron-Konzentration (in pg/mL) auf der x-Achse abgelesen.

Um die Werte von pg/mL in pmol/L umzurechnen müssen sie mit **3,47** multipliziert werden.

## ERWARTETE WERTE

Jedes Labor sollte jedoch seinen eigenen Normalbereich festlegen. Die in der Tabelle angegebenen Werte wurden bei gesunden Probanden ermittelt und dienen nur als Richtlinie.

Männer (Alter in Jahren)	n	Median (pg/mL)	Min. (pg/mL)	Max. (pg/mL)	2,5. Perzentile (pg/mL)	97,5. Perzentile (pg/mL)
20 - 29	30	15,40	7,54	27,79	8,68	25,09
30 - 39	30	14,94	6,77	22,36	8,85	21,40
40 - 49	30	11,48	7,37	20,47	7,56	18,64
50 und älter	30	9,05	4,52	15,05	5,72	14,21
Alle	120	12,35	4,52	27,79	6,76	22,76

Frauen	n	Median (pg/mL)	Min. (pg/mL)	Max. (pg/mL)	2,5. Perzentile (pg/mL)	97,5. Perzentile (pg/mL)
Follikelphase	32	1,48	0,59	4,28	0,64	3,41
Lutealphase	32	1,44	0,59	3,31	0,60	2,95
Präovulatorischer Peak	21	1,51	0,81	3,79	0,90	3,79
Postmenopausal	13	1,17	0,33	1,97	0,36	1,85
Kontrazeptiva	19	1,45	0,49	2,81	0,57	2,70

Frauen – zufällige Auswahl	n	Median (pg/mL)	Min. (pg/mL)	Max. (pg/mL)	2,5. Perzentile (pg/mL)	97,5. Perzentile (pg/mL)
Alle	120	1,29	0,33	4,28	0,49	2,87

Detaillierte Information über die erwarteten Kinderwerte (aufgeschlüsselt nach Alter und Geschlecht) sind im Datenblatt "APPENDIX" aufgeführt.

## QUALITÄTSKONTROLLE

Zur Einhaltung der Laborgrundregeln sollten regelmäßig Kontrollproben benutzt werden, um die Qualität der Ergebnisse zu sichern. Diese Proben müssen in genau derselben Weise wie die Assay Proben getestet werden, und die Analyse der Ergebnisse sollte mit angebrachten statistischen Methoden stattfinden.

Wenn für die Kontrollen nicht die richtigen Werte ermittelt werden, könnte dies an ungenauem Arbeiten, unvorschriftsmäßigem Umgang mit den Proben oder Verfall der Reagenzien liegen. Im Falle von Verpackungsschäden oder einer Leistungseinträchtigung des Produkts, kontaktieren Sie bitte Ihren lokalen Vertreter oder benutzen Sie die folgende e-mail: E-mail: imunochem@beckman.com

## SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

(Für mehr Details, siehe die Beilage "APPENDIX")

Repräsentative Daten dienen nur der Veranschaulichung. Die in einzelnen Labors erzielten Leistungen können anders ausfallen.

### Empfindlichkeit

Nachweisgrenze: 0,13 pg/mL

Die Nachweisgrenze für freies Testosteron beträgt 0,13 pg/mL und wurde im Einklang mit den Richtlinien im CLSI-Dokument EP17-A2 [4] bestimmt, basierend auf den Proportionen falsch-positiver Ergebnisse ( $\alpha$ ) kleiner

als 5 % und falsch-negativer Ergebnisse ( $\beta$ ) kleiner als 5 %, wobei Bestimmungen mit 120 Leerwertproben und 120 Proben mit geringem Volumen und ein Grenzwert für den Leerwert von 0,05 pg/mL verwendet wurden.

**Quantifizierungsgrenze (LoQ):** 0,37 pg/mL

Die Quantifizierungsgrenze für freies Testosteron beträgt 0,37 pg/mL und wurde im Einklang mit den Richtlinien im CLSI-Dokument EP17-A2 [4] bestimmt als die niedrigste Konzentration, bei der Kriterien für maximale Gesamtfehler erreicht wurden.

#### **Spezifität**

Der im Immunassay verwendete Antikörper ist hochspezifisch für freies Testosteron. Es wurden bei mehreren verwandten Molekülen geringe Kreuzreaktivitäten festgestellt.

#### **Präzision**

##### **Wiederholbarkeit und Präzision innerhalb eines Labors**

Die Präzision des Assays wurde im Einklang mit den Richtlinien im CLSI-Dokument EP05-A3 [5] bestimmt. Hinsichtlich der Wiederholbarkeit ergaben die Variationskoeffizienten einen Wert von weniger oder gleich 13,2 % der Serumproben. Hinsichtlich der Präzision innerhalb eines Labors ergaben die Variationskoeffizienten einen Wert von weniger oder gleich 19,3 % der Serumproben.

#### **Genauigkeit**

##### **Linearität**

Der Assay erwies sich unter Verwendung von Serumproben als linear von 0,30–114,11 pg/mL (wurde im Einklang mit den Richtlinien im CLSI-Dokument EP6-A [6] bestimmt).

**Messbereich** (von LoQ zum höchsten Kalibrator):

0,37 pg/mL bis ungefähr 100 pg/mL

## **EINSCHRÄNKUNGEN**

- Die Nichtbeachtung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage kann die Ergebnisse signifikant beeinflussen.
- Wenn die Röhrchen nach dem Dekantieren nicht ausreichend von noch vorhandener Flüssigkeit befreit werden, so kann dies ungenaue Doppelbestimmungen und falsche Messwerte zur Folge haben.
- Die erhaltenen Ergebnisse sind vor dem Hintergrund der gesamten klinischen Situation des Patienten unter Berücksichtigung seiner klinischen Vorgeschichte, den Ergebnissen anderer Testergebnisse sowie weiteren vorliegenden Informationen zu interpretieren.
- Wiederholtes Auftauen und Einfrieren der Proben oder Reagenzien sollte vermieden werden.
- Für mehr Details vgl. den Anhang "APPENDIX".
- Es besteht die Möglichkeit für eine Störung durch in der Patientenprobe enthaltene heterophile Antikörper. Patienten, die regelmäßig mit Tieren in Kontakt kommen oder sich immuntherapeutischen oder diagnostischen Verfahren unter Einsatz von Immunglobulinen oder Immunglobulin-Fragmenten unterzogen haben, können Antikörper bilden (z.B. HAMA), die im Immunoassay stören. Derartige störende Antikörper können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Die Ergebnisse von Patienten, bei denen das Vorliegen derartiger Antikörper zu vermuten ist, sind sorgfältig zu prüfen.

# ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

## KIT RADIOIMMUNOLOGICO PER LA DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DEL TESTOSTERONE LIBERO IN SIERO UMANO

**QUESTO TEST È DESTINATO ALL'USO DIAGNOSTICO IN VITRO.**

### PRINCIPIO

Questo kit per il dosaggio del Testosterone libero, utilizza un metodo radioimmunologico competitivo. La procedura segue il principio fondamentale del dosaggio radioimmunologico, che comporta la competizione tra un antigene radioattivo e uno non radioattivo per un numero fisso di siti leganti l'anticorpo [1]. La quantità di analogo del testosterone marcato con [<sup>125</sup>I] legato all'anticorpo è inversamente proporzionale alla concentrazione di testosterone libero non marcato presente. La separazione tra antigene libero e legato si ottiene usando un sistema a provette sensibilizzate. Si traccia una curva di taratura e si calcolano per interpolazione sulla curva le concentrazioni dei campioni.

**Sommario e spiegazione del test sono riportati in APPENDICE.**

### AVVERTENZE E PRECAUZIONI

**Considerazioni generali:**

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Aprire i flaconi dei calibratori e controlli nel più breve tempo possibile per evitarne l'eccessiva evaporazione.
- Non utilizzare reattivi di lotti diversi.
- Non utilizzare i componenti oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta.
- Inserire la curva standard in ogni esperimento.
- Eseguire il dosaggio in duplicato.
- Prima dell'uso, mescolare calibratori e controlli capovolgendoli o agitandoli delicatamente; non vortexarli.

### Norme di radioprotezione

L'acquisto, la detenzione, l'utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale. 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 con la bocca.
- Evitare ogni contatto con i materiali radioattivi usando guanti e camice da laboratorio.
- Tutte le manipolazioni di sostanze radioattive devono essere effettuate in un luogo appropriato, lontano da corridoi o altre aree affollate.
- I materiali radioattivi devono essere conservati nel contenitore fornito e in un'area designata.
- 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.

### Sodio azide

Alcuni reattivi contengono sodio azide come conservante, che può reagire con piombo, rame o ottone presenti nelle tubature di scarico per formare metallo-azidi esplosivi. Smaltire questi reattivi facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi [2].

### Materiale di origine umana

Campioni di pazienti e prodotti emoderivati possono essere analizzati di routine con rischio minimo, osservando la procedura indicata. Tuttavia, maneggiare questi prodotti come fonte potenziale di infezione, indipendentemente dall'origine, dal trattamento o da precedente certificazione, adottando le precauzioni adeguate e seguendo le corrette pratiche cliniche di laboratorio. Per la decontaminazione, utilizzare un

disinfettante adeguato. Per la conservazione e lo smaltimento di queste sostanze e dei loro contenitori, attenersi scrupolosamente alle locali norme di legge in materia.

### CLASSIFICAZIONE PERICOLI GHS

Classificato non pericoloso

**SDS**

La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile su [techdocs.beckmancoulter.com](http://techdocs.beckmancoulter.com)

### RACCOLTA, MANIPOLAZIONE, DILUIZIONE E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

- Raccogliere i campioni in provette senza anticoagulante.
- Lasciar coagulare completamente i campioni di siero prima della centrifugazione.
- Conservare i campioni a 2-8 °C fino a 24 ore o, suddivisi in aliquote, a -20 °C o a temperature inferiori per un massimo di 2 mesi [3]. Evitare ripetuti cicli di congelamento – scongelamento dei campioni.
- Lasciare scongelare i campioni congelati e miscelarli con cura agitandoli o capovolgendoli delicatamente prima dell'uso.
- Ogni campione con letture più elevate dello standard massimo non può essere diluito. La diluizione, infatti, cambia la proporzione tra testosterone libero e quello legato.

### MATERIALI FORNITI

I reattivi, conservati a 2-8 °C, sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta del kit. Le date di scadenza riportate sulle etichette di ciascun flacone si riferiscono alla conservazione dei reattivi stabilita in produzione, prima del loro inserimento nel kit.

Le modalità di conservazione dei reagenti aperti sono riportate nei relativi paragrafi.

**Provette sensibilizzate con anticorpo anti Testosterone libero: 2 x 50 provette** (pronte per l'uso)

Provette di plastica, sensibilizzate con immunoglobulina di coniglio anti-testosterone, adesa alla parete interna di ciascuna provetta.

**Marcato di analogo del Testosterone-<sup>125</sup>I (GIALLO): un flacone 22 mL** (pronto per l'uso)

Il flacone contiene meno di 185 kBq (<5 µCi), (alla data di marcatura) di analogo del testosterone -<sup>125</sup>I in tampone con proteine (BSA), sodio azide (<0,1%) e un colorante inerte.

**Calibratori: 1 falcone da 1,0 mL (0) + 7 flaconi da 0,5 mL (1-7)** (pronti per l'uso)

I flaconi contengono testosterone libero a concentrazioni comprese tra 0 e circa 100 pg/mL (0 e circa 346,7 pmol/L) in siero umano con sodio azide (< 0,1%). L'esatta concentrazione dei calibratori è riportata sulle etichette di ciascun flacone. Una volta aperti, conservare i flaconi a 2-8 °C per un massimo di tre settimane. Per periodi di tempo più lunghi, conservare ad almeno -20 °C fino alla data di scadenza del kit. I calibratori sono calibrati contro lo standard interno.

**Sieri di controllo: due flaconi da 0,5 mL (1, 2)** (pronti per l'uso)

I flaconi contengono testosterone libero in siero umano con sodio azide (<0,1%). I valori attesi sono riportati sul foglio del controllo di qualità. Una volta aperti, conservare i flaconi a 2-8 °C per un massimo di tre settimane. Per periodi di tempo più lunghi, conservare ad almeno -20 °C fino alla data di scadenza del kit.

### MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Oltre alla normale attrezzatura da laboratorio, è richiesto il materiale seguente:

- provette da 12 x 75 mm, in plastica o vetro per le conte totali
- portaprovette per provette da 12 x 75 mm
- Micropipetta di precisione (50 µL).
- pipette semi-automatiche (200 µL, 3,0 mL)
- Acqua deionizzata.
- Agitatore di tipo Vortex.
- bagnomaria con range di temperatura 37 ± 2 °C
- rack per la decantazione o dispositivo simile
- materiale assorbente per tamponare le provette

- Contatore gamma programmato per leggere <sup>125</sup>I.

## PROCEDURA

### Preparazione dei reattivi

Equilibrare i reattivi a temperatura ambiente e mescolare le con cura.

### Schema del dosaggio

Analizzare calibratori, controlli e campioni sconosciuti in duplicato.

Fase 1 Dispensazione	Fase 2 Incubazione & Lavaggio	Fase 3 Conteggio
Aggiungere in successione alle provette sensibilizzate:	Coprire e incubare a bagnomaria a 37 ± 2 °C per 60 minuti.	Fare decantare, (eccetto provette per le conte totali), capovolgendo contemporaneamente il rack di decantazione in un recipiente per rifiuti radioattivi.
50 µL dei calibratori, controlli o campioni, subito dopo 200 µL di marcato.	Fare decantare, (eccetto provette per le conte totali), capovolgendo contemporaneamente il rack di decantazione in un recipiente per rifiuti radioattivi.	Picchiare le provette con decisione su materiale assorbente per facilitare lo svuotamento completo.
Vortexare.	Picchiare le provette con decisione su materiale assorbente per facilitare lo svuotamento completo. Aggiungere 3,0 mL di acqua deionizzata in tutte le provette, ad eccezione di quelle per le conte totali.	Lasciarle svuotare su materiale assorbente per >2 minuti e tamponarne delicatamente il bordo. Contare la radioattività legata (B) e l'attività totale (T) per 1 min.

\*Aggiungere 200 µL di marcato a 2 provette per la determinazione dell'attività totale.

## RISULTATI

Le concentrazioni di testosterone libero nei campioni e controlli vengono calcolate per interpolazione sulla curva standard. Dosare campioni e controlli dosati assieme ai calibratori.

### Curva standard

I risultati registrati dal reparto responsabile del controllo di qualità sono stati calcolati utilizzando l'adattamento della curva con metodo *spline* con  $B/T$  o  $B/B_0$  sull'asse verticale lin e la concentrazione di analiti dei calibratori sull'asse orizzontale log (pg/mL).

Altri metodi di interpolazione dati possono dare risultati leggermente differenti.

ED<sub>50</sub> = 3,710 pg/mL

Attività totale: 62.502 cpm				
Calibratori	Testosterone libero (pg/mL)	cpm (n=2)	B/T (%)	B/B <sub>0</sub> (%)
0	0	28.056	44,89	100,0
1	0,23	23.889	38,22	85,15
2	0,90	18.675	29,88	66,56
3	2,80	15.016	24,03	53,52
4	9,50	10.466	16,75	37,30
5	26,00	6.682	10,69	23,82
6	50,00	4.466	7,15	15,92
7	100,0	2.989	4,78	10,66

(Esempio di curva standard. Non usare per calcolare il valore dei propri campioni)

### Campioni

Calcolare B/T o B/B<sub>0</sub> per ogni campione, riportarlo sull'asse delle ordinate e leggere le concentrazioni corrispondenti sull'asse delle ascisse.

Fattore di conversione per passare da pg/mL a pmol/L: moltiplicare i risultati per 3,47.

## VALORI ATTESI

Ogni laboratorio deve stabilire i propri limiti di riferimento per campioni provenienti da soggetti caratterizzati clinicamente. Le concentrazioni di testosterone libero nel siero riportate nella tabella sono state ottenute in soggetti sani apparentemente normali.

Uomini (età in anni)	n	Mediana (pg/mL)	Min (pg/mL)	Max. (pg/mL)	2,5° percentile (pg/mL)	97,5° percentile (pg/mL)
20 - 29	30	15,40	7,54	27,79	8,68	25,09
30 - 39	30	14,94	6,77	22,36	8,85	21,40
40 - 49	30	11,48	7,37	20,47	7,56	18,64
50 e oltre	30	9,05	4,52	15,05	5,72	14,21
Tutti	120	12,35	4,52	27,79	6,76	22,76

Donne	n	Mediana (pg/mL)	Min (pg/mL)	Max. (pg/mL)	2,5° percentile (pg/mL)	97,5° percentile (pg/mL)
Fase follicolare	32	1,48	0,59	4,28	0,64	3,41
Fase luteale	32	1,44	0,59	3,31	0,60	2,95
Picco preovulatorio	21	1,51	0,81	3,79	0,90	3,79
Postmenopausa	13	1,17	0,33	1,97	0,36	1,85
Contraccettivi	19	1,45	0,49	2,81	0,57	2,70

Donne casuale	n	Mediana (pg/mL)	Min (pg/mL)	Max. (pg/mL)	2,5° percentile (pg/mL)	97,5° percentile (pg/mL)
Tutti	120	1,29	0,33	4,28	0,49	2,87

Informazioni dettagliate sui valori attesi per i bambini (ordinati per età e sesso) si possono trovare in "APPENDIX".

## CONTROLLO DI QUALITÀ

Si consiglia ad ogni laboratorio di dosare regolarmente sieri di controllo per verificare la qualità dei risultati ottenuti. Questi campioni devono essere manipolati esattamente come i campioni in esame; i risultati devono essere analizzati con metodi statistici appropriati.

Il mancato ottenimento di valori appropriati per i controlli, può indicare manipolazioni errate, trattamento inappropriato dei campioni o deterioramento dei reagenti. Nel caso di deterioramento dell'imballaggio o nel caso in cui i dati ottenuti mostrino una diminuzione di performance del prodotto, si prega di contattare il distributore locale o di riferirsi all'indirizzo e-mail [imunochem@beckman.com](mailto:imunochem@beckman.com)

## CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

(Ulteriori dati sono riportati in APPENDIX)

Vengono forniti dati rappresentativi a mero scopo illustrativo. I risultati possono variare da laboratorio a laboratorio.

### Sensibilità

Limite rilevazione (LoD): 0,13 pg/mL

Il limite di rilevazione (LoD) per il testosterone libero è 0,13 pg/mL, stabilita in conformità alle linee guida del documento CLSI EP17-A2 [4] in base alle proporzioni di falsi positivi (α) inferiori al 5% e falsi negativi (β) inferiori al 5%; utilizzando le determinazioni, con 120 campioni vuoti e 120 campioni con livello basso; e limite del bianco (LoB) di 0,05 pg/mL.

Limite di quantificazione (LoQ): 0,37 pg/mL

Il limite di quantificazione (LoQ) per il testosterone libero è di 0,37 pg/mL, determinato secondo le linee guida del documento EP17-A2 [4] del CLSI come la concentrazione più bassa in cui è stato soddisfatto il criterio per l'errore totale massimo.

### Specificità

L'anticorpo utilizzato nel dosaggio immunometrico è altamente specifico per il testosterone libero. Sono state registrate reattività crociate basse con varie molecole correlate.

### Precisione

#### Ripetibilità e precisione intra-laboratorio

La precisione del dosaggio è stata stabilita in conformità alle linee guida del documento CLSI EP05-A3 [5]. Per la ripetibilità i coefficienti di variazione erano minori o uguali al 13,2% per i campioni di siero. Per la precisione intra-laboratorio i coefficienti di variazione erano minori o uguali al 19,3% per i campioni di siero.

**Accuratezza****Linearità**

Il dosaggio ha dimostrato di rimanere lineare da 0,30 a 114,11 pg/mL utilizzando campioni di siero (stabilito in conformità alle linee guida del documento EP6-A [6] del CLSI).

**Intervallo di misurazione** (dal LoQ al calibratore più elevato):

Da 0,37 pg/mL a circa 100 pg/mL

**LIMITAZIONI**

- Seguire fedelmente le istruzioni d'uso per evitare risultati aberranti.
- Un'asciugatura non appropriata delle provette dopo la decantazione, può determinare replicati inadeguati e valori non attendibili.
- I risultati devono essere interpretati in base alla valutazione clinica complessiva della paziente, che comprende la storia clinica, i dati

ottenuti con altri test diagnostici o strumentali ed altre informazioni appropriate.

- Evitare cicli ripetuti di congelamento e scongelamento dei reagenti o dei campioni.
- Ulteriori dati sono riportati in Appendice.
- Nei test anticorpali, esiste la possibilità di interferenza degli anticorpi eterofili presenti nei campioni dei pazienti. I pazienti regolarmente a contatto con animali o sottoposti a immunoterapia o a procedure diagnostiche a base di immunoglobuline o frammenti di immunoglobuline possono produrre anticorpi, p.e. HAMA, che interferiscono con gli immunodosaggi. Tali anticorpi interferenti possono portare a risultati errati. Valutare attentamente i risultati di pazienti che potrebbero presentare questi anticorpi.

# ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

## RADIOINMUNOENSAYO PARA LA DETERMINACION CUANTITATIVA DE LA TESTOSTERONA LIBRE EN SUERO HUMANO ESTE ENSAYO ES PARA DIAGNÓSTICO “USO IN VITRO”

### PRINCIPIO

El radioinmunoensayo de la testosterona libre es un ensayo competitivo. El procedimiento sigue el principio básico del radioinmunoensayo, en donde existe una competencia entre un antígeno radiactivo y otro no radiactivo por un número fijo de sitios de unión a anticuerpos [1]. La cantidad del análogo de testosterona marcado con <sup>125</sup>I unido al anticuerpo es inversamente proporcional a la concentración de testosterona libre sin marcar presente en la muestra. La separación del antígeno libre del unido se realiza mediante una simple decantación o aspiración de los tubos recubiertos. Se prepara una curva estándar y los valores desconocidos se determinan mediante interpolación con dicha curva.

Para RESUMEN Y EXPLICACION DEL ENSAYO ver la página de “APENDICES”.

### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

#### Precauciones generales

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Los viales de los calibradores y controles deben ser abiertos durante el menor tiempo posible, para así evitar evaporaciones excesivas.
- No mezclar los reactivos de lotes diferentes.
- No utilice ningún componente después de la fecha de caducidad indicada en su etiqueta.
- Incluir una curva estándar en cada ensayo.
- Se recomienda realizar el ensayo por duplicado.
- Los calibradores y controles deben mezclarse antes de su uso, para lo cual es mejor invertirlos o agitarlos suavemente en vez de vortexear (agitación fuerte).

#### Reglas básicas de seguridad radiológica

La compra, posesión, uso y transferencia de material radiactivo están sujetas a las disposiciones legales del país en el que se utiliza. El cumplimiento de las normas básicas de seguridad radiológica proporciona protección adecuada.

- No se debe comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en presencia de materiales radiactivos.
- No pipetear con la boca.
- Evitar cualquier contacto con materiales radiactivos mediante el uso de guantes y bata de laboratorio.
- Toda manipulación de material radiactivo debe realizarse en el lugar adecuado, alejado de corredores y espacios ocupados.
- Los materiales radiactivos deben almacenarse en el contenedor aprobado y en una zona especializada.
- Se debe llevar y conservar actualizado un registro de las entradas y almacenamiento de todos los productos radiactivos.
- El equipo y material de vidrio de laboratorio que son objeto de contaminación se deben separar para evitar la contaminación con otros radioisótopos.
- Cada caso de contaminación radiactiva, o de pérdida de materiales radiactivos se debe resolver de acuerdo con los procedimientos establecidos.
- El desecho radiactivo debe manipularse de acuerdo a las reglas establecidas por el país donde se utiliza.

#### Azida sódica

Algunos reactivos contienen azida sódica como conservante. La azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre formando azidas metálicas altamente explosivas. Es por ello que se recomienda realizar el desecho de todo material líquido juntamente con grandes cantidades de agua, evitando así la formación de las mismas [2].

#### Material de origen humano

Las muestras de los pacientes y los hemoderivados pueden procesarse rutinariamente con un mínimo de riesgo utilizando el procedimiento descrito. No obstante, deben manipularse dichos productos como potencialmente infecciosos con arreglo a las precauciones universales y a las buenas prácticas de laboratorio clínico, independientemente de su origen, tratamiento o certificación previa. Debe utilizarse un desinfectante apropiado para la descontaminación. Deben conservarse y eliminarse dichos materiales y sus envases con arreglo a las normas y directrices locales.

### CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico

**SDS**

La hoja de datos de seguridad está disponible en [techdocs.beckmancoulter.com](http://techdocs.beckmancoulter.com)

### RECOLECCIÓN, PROCESAMIENTO, ALMACENAMIENTO Y DILUCION DE LAS MUESTRAS

- El tipo de muestra recomendado es el suero.
- Permitir que las muestras de suero se coagulen completamente antes de su centrifugado.
- Las muestras séricas pueden conservarse entre 2 °C y 8 °C si el ensayo se realiza dentro de las primeras 24hs de extraída la muestra. Para periodos de conservación prolongados, congele < -20 °C durante un máximo de 2 meses [3]. Se recomienda, el uso de alícuotas para así evitar congelamientos y descongelamientos sucesivos.
- Toda muestra congelada debe ser descongelada y mezclada completamente, ya sea removiéndola suavemente o mediante inversión suave, antes de su uso.
- Toda muestra sérica con un resultado mayor que el calibrador más alto NO debe ser diluida. La dilución podrá cambiar la proporción entre la testosterona libre de la unida.

### MATERIALES PROPORCIONADOS

Todos los reactivos provistos-sin abrir- son estables entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad del equipo, la cual se indica en la etiqueta externa. Las fechas de caducidad impresas sobre las etiquetas de los frascos son válidas sólo para el fabricante, durante su almacenamiento a largo plazo hasta antes del ensamblaje del equipo. No tener en cuenta.

Las condiciones de almacenamiento de los reactivos abiertos se indican en los párrafos pertinentes.

**Tubos recubiertos con anti-testosterona libre: 2 x 50 tubos** (listos para usar).

Tubos de plástico recubiertos en su pared interna con la inmunoglobulina policlonal de conejo, anti-testosterona.

**Trazador análogo de la testosterona marcado con <sup>125</sup>I (AMARILLO): un frasco x 22 mL** (listo para usar)

El frasco contiene 185 kBq (<5 µCi), el día de su elaboración, del análogo de testosterona marcado con <sup>125</sup>I en buffer proteico (BSA), azida sódica (<0,1 %) y un colorante.

**Calibradores: 1 frasco x 1,0 mL (rotulado 0) + 7 frascos x 0,5 mL (rotulados 1-7)** (listos para usar)

Los frascos contienen desde 0 hasta aproximadamente 100 pg/mL (0 hasta aproximadamente 346,7 pmol/L) de testosterona libre en suero humano con azida sódica (< 0,1 %). La concentración exacta se indica en cada etiqueta. Una vez abiertos, conserve los frascos entre 2-8 °C hasta un máximo de tres semanas. Para periodos de conservación más prolongados (ó hasta la fecha de caducidad del equipo), consérvelos a < -20 °C. Los valores de los calibradores se encuentran validados frente a un estándar de referencia interno.

**Controles: 2 frascos x 0,5 mL, rotulados 1, 2** (listos para usar)

Los frascos contienen testosterona libre en suero humano con azida sódica (<0,1 %). El rango de concentración exacta se indica en la hoja anexa. Una vez abiertos, conserve los frascos entre 2-8 °C hasta un máximo de tres semanas. Para periodos de conservación más prolongados (ó hasta la fecha de caducidad del equipo), consérvelos a < -20 °C.

## MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

Además del equipo normal de laboratorio se requiere lo siguiente:

- Tubos de ensayo de plástico o de vidrio de 12 x 75 mm para cuentas totales.
- Gradilla para tubos de ensayo de 12 x 75 mm
- Micropipeta de precisión (50 µL).
- Pipetas semiautomáticas (200 µL, 3 mL).
- Agua desionizada.
- Mezclador automático (tipo Vórtex).
- Baño termostático que regule a  $37 \pm 2$  °C.
- Gradilla –absorbente- para decantación o dispositivo similar
- Material absorbente para secado de los tubos
- Contador gamma calibrado para I125.

## PROCEDIMIENTO

### Preparación de los reactivos

Antes de su uso, permita que todos los reactivos alcancen temperatura ambiente y mézclelos totalmente mediante una inversión suave.

### Procedimiento del ensayo

Los calibradores, controles y muestras de concentración desconocida deben ser procesados en el ensayo por duplicado.

Paso 1 Adiciones	Paso 2 Incubación & Lavado	Paso 3 Lavado y Conteo
Agregue en el fondo de los tubos rotulados lo siguiente:	Tape e incube durante 60 min. en un baño de agua a $37 \pm 2$ °C.	Decante todos los tubos, (excepto los tubos de cuentas totales), mediante inversión simultánea con una gradilla absorbente-ó dispositivo similar- para decantación, volcando el contenido radiactivo dentro del dispositivo especial de recolección de residuos líquidos radiactivos.
50 µL de calibradores, controles ó muestras, e inmediatamente después 200 µL de trazador.	Decante todos los tubos, (excepto los tubos de cuentas totales), mediante inversión simultánea con una gradilla absorbente-ó dispositivo similar- para decantación, volcando el contenido radiactivo dentro del dispositivo especial de recolección de residuos líquidos radiactivos.	Golpeé los tubos firmemente sobre un material absorbente para facilitar su drenaje completo.
Agite con el vórtex.	Golpeé los tubos firmemente sobre un material absorbente para facilitar su drenaje completo.  Agregue 3,0 mL de agua deionizada a todos los tubos, excepto los tubos de cuentas totales (T)	Déjelos drenar bien sobre material absorbente durante 2 minutos. Seque las gotas de los bordes de los tubos.  Determine con un contador gamma, las cpm unidas (B) y las cpm totales (T) durante 1 min.

\*Agregue 200 µL de trazador a 2 tubos adicionales para obtener las cpm totales. (T)

## RESULTADOS

Los resultados se obtienen por interpolación con la curva estándar. La curva sirve para la determinación de las concentraciones de la testosterona libre en las muestras medidas al mismo tiempo que los calibradores.

### Curva estándar

Los resultados del departamento de control de calidad se calcularon usando el ajuste de curva *spline* con B/T o B/B<sub>0</sub> en el eje lineal vertical y la concentración de analitos de los calibradores en el eje logarítmico horizontal (pg/mL).

Otros métodos de reducción de datos pueden dar resultados ligeramente diferentes.

ED<sub>50</sub> = 3,710 pg/mL.

Actividad total: 62 502 cpm				
Calibradores	Testosterona libre (pg/mL)	cpm (n=2)	B/T (%)	B/B <sub>0</sub> (%)
0	0	28 056	44,89	100,0
1	0,23	23 889	38,22	85,15
2	0,90	18 675	29,88	66,56
3	2,80	15 016	24,03	53,52
4	9,50	10 466	16,75	37,30
5	26,00	6682	10,69	23,82
6	50,00	4466	7,15	15,92
7	100,0	2989	4,78	10,66

(Ejemplo de curva estándar, no utilizar para los cálculos)

### Muestras

Para cada muestra marcar sobre el eje vertical el B/T o el B/B<sub>0</sub> y sobre el eje horizontal, leer la correspondiente concentración de la testosterona libre de las muestras (pg/mL).

Para convertir de pg/mL a pmol/L, multiplicar los resultados por 3.47.

## VALORES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia. Los valores que figuran a continuación se determinaron utilizando muestras séricas de adultos aparentemente normales y sanos.

Hombres (edad en años)	n	Mediana (pg/mL)	Mín (pg/mL)	Máx. (pg/mL)	Percentil 2,5 (pg/mL)	Percentil 97,5 (pg/mL)
20 - 29	30	15,40	7,54	27,79	8,68	25,09
30 - 39	30	14,94	6,77	22,36	8,85	21,40
40 - 49	30	11,48	7,37	20,47	7,56	18,64
50 o más	30	9,05	4,52	15,05	5,72	14,21
Todos	120	12,35	4,52	27,79	6,76	22,76

Mujeres	n	Mediana (pg/mL)	Mín (pg/mL)	Máx. (pg/mL)	Percentil 2,5 (pg/mL)	Percentil 97,5 (pg/mL)
Fase Folicular	32	1,48	0,59	4,28	0,64	3,41
Fase Lútea	32	1,44	0,59	3,31	0,60	2,95
Pico preovulatorio	21	1,51	0,81	3,79	0,90	3,79
Postmenopausia	13	1,17	0,33	1,97	0,36	1,85
Anticonceptivos	19	1,45	0,49	2,81	0,57	2,70

Mujeres al azar	n	Mediana (pg/mL)	Mín (pg/mL)	Máx. (pg/mL)	Percentil 2,5 (pg/mL)	Percentil 97,5 (pg/mL)
Todos	120	1,29	0,33	4,28	0,49	2,87

Información detallada acerca de los valores esperados para niños clasificada de acuerdo a la edad y al sexo) puede ser encontrada en la hoja de datos "APPENDICES".

## CONTROL DE CALIDAD

Las buenas prácticas de los laboratorios implica que las muestras controles sean utilizadas en forma regular para así asegurar la calidad de los resultados que se obtengan. Dichas muestras controles deben ser procesadas de la misma manera que las muestras séricas de los pacientes. Y se recomienda que dichos resultados sean analizados utilizando métodos estadísticos apropiados.

Fallas en la obtención de valores adecuados para los controles podría indicar manipulaciones imprecisas, mal manejo de las muestras, ó deterioro de los reactivos. En caso de deterioro del embalaje o si los resultados obtenidos muestran un desarrollo alterado, por favor, contacte su distribuidor local ó utilice la siguiente dirección de e-mail: [imunochem@beckman.com](mailto:imunochem@beckman.com)

## CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

(Para mayores detalles ver la página de "APPENDIX")

Se facilitan datos representativos solo a modo de ejemplo. El rendimiento obtenido en los distintos laboratorios puede variar.

### Sensibilidad

**Límite de Detección (LD):** 0,13 pg/mL

El LD para la testosterona libre es de 0,13 pg/mL, considerado como coherente con las directrices del documento EP17-A2 [4] del CLSI en función de las proporciones de falsos positivos ( $\alpha$ ) inferiores al 5 % y falsos negativos ( $\beta$ ) inferiores al 5 %; usando determinaciones, con 120 muestras en blanco y 120 muestras de bajo nivel; y con límite de blanco (LB) de 0,05 pg/mL.

**Límite de cuantificación (LQ):** 0,37 pg/mL

El LQ para la testosterona libre es de 0,37 pg/mL, determinado de acuerdo con las directrices del documento EP17-A2 [4] del CLSI como la concentración más baja en la que se alcanzó el criterio de error total máximo.

### Especificidad

El anticuerpo que se usa en el inmunoanálisis es altamente específico para la testosterona libre. Se obtuvieron reactividades cruzadas bajas frente a varias moléculas relacionadas.

### Precisión

#### Repetibilidad y precisión intralaboratorio

Se ha considerado que la precisión del ensayo se ajusta a las directrices del documento EP05-A3 [5] del CLSI. En cuanto a la repetibilidad, los coeficientes de variación fueron inferiores o iguales al 13,2 % para las muestras de suero. En cuanto a la precisión intralaboratorio, los coeficientes de variación fueron inferiores o iguales al 19,3 % para las muestras de suero.

### Precisión

#### Linealidad

Se ha puesto de manifiesto que el ensayo es lineal de 0,30 a 114,11 pg/mL usando muestras de suero (considerado como coherente con las directrices del documento EP6-A [6] del CLSI).

**Rango de medición** (desde el LQ al calibrador más alto):

De 0,37 pg/mL a aproximadamente 100 pg/mL

## LIMITACIONES

- Siga atentamente las instrucciones de uso ya que de lo contrario, los resultados pueden verse afectados significativamente.
- No proceder con el buen secado de los tubos después de la decantación, puede arrojar duplicados y/o resultados erróneos.
- Los resultados deberán ser interpretados como una ayuda dentro de la situación clínica del paciente, incluyendo la historia clínica, así como los datos provenientes de otras testas adicionales.
- Evite congelar y descongelar repetidamente los reactivos y las muestras.
- Para mayores detalles ver la página de "APENDICES".
- Existe la posibilidad de interferencias debido a la presencia de anticuerpos heterófilos en la muestra del paciente. Los pacientes que hayan estado regularmente en contacto con animales o hayan recibido inmunoterapia o procedimientos diagnósticos con inmunoglobulinas o fragmentos de inmunoglobulinas pueden producir anticuerpos, p.ej. HAMA, que interfieren con los inmunoensayos. Esos anticuerpos que crean interferencias pueden causar resultados erróneos. Evaluar cuidadosamente los resultados de pacientes en los cuales se sospeche que puedan tener esta clase de anticuerpos.



# ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

## RADIOIMUNOENSAIO PARA DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE TESTOSTERONA LIVRE EM SORO HUMANO

**ESTE ENSAIO É DESENVOLVIDO PARA DIAGNÓSTICO 'IN VITRO'**

### PRINCÍPIO

O radioimunoensaio de testosterona livre é um ensaio competitivo. O procedimento segue o princípio básico de radioimunoensaio, onde existe competição entre um antígeno radioativo e um não radioativo por um número fixo de sítios de ligação no anticorpo [1]. A quantidade de testosterona análoga marcada com [<sup>125</sup>I] ligada ao anticorpo é inversamente proporcional à concentração de testosterona livre não marcada presente na amostra. A separação do antígeno livre e do ligado é feita utilizando-se a decantação ou aspiração dos tubos revestidos com anticorpo. Uma curva padrão é construída e os valores de testosterona livre desconhecidos são obtidos a partir da curva por interpolação.

*Para SUMÁRIO E EXPLICAÇÃO DO TESTE veja o Apêndice.*

### AVISOS E PRECAUÇÕES

#### Orientações Gerais:

- Para fins de diagnóstico *in vitro*.
- Os frascos dos calibradores e controles devem estar abertos durante o menor tempo possível, de forma a evitar evaporação excessiva.
- Não misture os reagentes de kits de diferentes lotes.
- Não utilize qualquer componente para além da data de validade indicada no rótulo.
- Deve ser estabelecida uma curva padrão em cada ensaio.
- É recomendado que o ensaio seja feito em duplicado.
- Calibradores e Controles devem ser homogeneizados antes do uso por inversão ou por agitação suave ao invés do uso de vórtex.

#### Regras básicas de segurança para radiação

A compra, uso e transferência de material radioactivo estão sujeitos à regulamentação de cada país. A adesão às regras básicas de segurança para a radiação fornecem a protecção adequada:

- Não comer, beber, fumar ou aplicar cosméticos na área onde os materiais radioativos estiverem sendo manipulados.
- Não pipetar com a boca.
- Utilize luvas e bata para evitar qualquer contacto com materiais radioativos.
- A manipulação de substâncias radioativas deve ser efetuada em local apropriado e longe de corredores e outras zonas muito frequentadas.
- Os materiais radioativos devem ser armazenados no recipiente fornecido e numa área designada.
- O registro de recepção e armazenamento de produtos radioativos devem ser mantidos atualizados.
- Equipamentos laboratoriais e vidrarias que estão sujeitas à contaminação devem ser separados para prevenir a contaminação cruzada de radioisótopos diferentes.
- Cada caso de contaminação ou perda de material radioativo deve ser efetuada de acordo com os procedimentos estabelecidos.
- Descarte dos reagentes e materiais deve ser de acordo com a regulamentação aplicável.

#### Azida Sódica

Alguns dos reagentes contêm azida sódica como conservante. Azida Sódica reage com chumbo e cobre das tubulações e forma azidas metálicas altamente explosivas. Ao descartar os líquidos, deixe correr grande quantidade de água a fim de prevenir a formação destas azidas [2].

#### Soro Humano

As amostras dos doentes e os produtos hemoderivados podem ser analisados rotineiramente com riscos mínimos utilizando o procedimento descrito. Contudo, deve manusear estes produtos como potencialmente infecciosos de acordo com as precauções gerais e os métodos adequados de laboratórios clínicos, independentemente da origem, tratamento

ou certificação anterior. Usar um desinfetante apropriado para a descontaminação. Armazenar e eliminar estes materiais e os respectivos contentores segundo o regulamento e as normas locais.

### CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO GHS

Não classificado como perigoso

**SDS**

A Ficha de dados de segurança está disponível em [techdocs.beckmancoulter.com](http://techdocs.beckmancoulter.com)

### COLHEITA, PROCESSAMENTO, ARMAZENAMENTO, E DILUIÇÃO DAS AMOSTRAS

- O tipo de amostra recomendada é soro.
- Deixar as amostras de soro coagularem completamente antes da centrifugação.
- As amostras de soro podem ser armazenadas de 2-8 °C, se o ensaio for efetuado dentro de 24 horas. Para longos períodos mantenha congelado à < -20 °C, por até 2 meses [3]. É recomendado preparar aliquotas a fim de evitar repetidos ciclos de descongelamento.
- Amostras congeladas devem ser descongeladas e bem homogeneizadas por suave inversão ou rotação antes do uso.
- Qualquer amostra com leitura acima da concentração do calibrador mais alto NÃO deve ser diluída. A diluição irá alterar a proporção da testosterona livre para testosterona ligada.

### MATERIAIS FORNECIDOS

Todos os reagentes fechados do kit são estáveis até a data de validade apontada no rótulo do kit, quando armazenado de 2-8 °C. As datas de validade impressa nos rótulos são válidas, somente, para armazenamento dos componentes em longo prazo pelo fabricante.

As condições de armazenamento dos reagentes abertos são indicadas nos parágrafos apropriados.

**Tubos revestidos com Anticorpos Testosterona Livre: 2 x 50 tubos** (pronto para uso)

Tubos plásticos com imunoglobulina de coelho anti-Testosterona imobilizados às paredes de cada tubo.

**Traçador Análogo de Testosterona marcado-[<sup>125</sup>I] (AMARELO): um frasco 22 mL** (pronto para uso)

O frasco contém, na data de fabricação, 185 kBq (<5 µCi) de [<sup>125</sup>I] ligado a testosterona análoga em tampão com proteínas (BSA) e azida sódica (<0,1%) e corante.

**Calibradores: um frasco 1 mL identificado como 0, e sete frascos 0,5 mL identificados de 1-7** (pronto para uso)

Os frascos dos calibradores contêm de 0 a, aproximadamente 100 pg/mL (0 a, aproximadamente 346,7 pmol/L) de testosterona livre em soro humano com azida sódica (< 0,1%). A concentração exata é indicada no rótulo de cada frasco. Uma vez aberto, armazene de 2-8 °C por até 3 semanas ou a < -20 °C até a data de validade do kit. Os valores dos calibradores foram estabelecidos utilizando-se um padrão interno.

**Controles: dois frascos 0,5 mL, identificados 1e 2** (pronto para uso)

Os frascos contêm testosterona livre em soro humano com azida sódica (<0,1%). Os valores esperados estão no intervalo de concentração indicado no suplemento que acompanha o kit. Uma vez aberto, armazene de 2-8 °C por até 3 semanas ou a < -20 °C até a data de validade do kit.

### MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Em adição ao material usual de laboratório, é ainda necessário:

- Tubos de ensaio de plástico ou vidro de 12 x 75 mm para a contagem total.
- Suporte para tubos 12 x 75 mm.
- Micropipetas de Precisão (50 µL).
- Pipetas semi-automáticas (200 µL, 3,0 mL).
- Água desionizada.
- Agitador tipo centrifugadora (Vortex).
- Banho-maria de 37 ± 2 °C.

- Uma estante de espuma para decantação ou dispositivo similar.
- Material absorvente para secagem dos tubos.
- Contador Gamma ajustado para iodo 125.

## PROCEDIMENTO

### Preparação dos Reagentes

Deixe todos os reagentes atingirem a temperatura ambiente e homogeneíze bem por suave inversão antes do uso.

### Procedimento de Ensaio

Calibradores, controlos e amostras de doentes em duplicado.

Passo 1 Pipetagem	Passo 2 Incubação e Lavagem	Passo 3 Lavagem & Contagem
No fundo dos tubos revestidos adicione, sucessivamente:	Cubra e Incube por 60 min em banho-maria à $37 \pm 2$ °C.	Decante todos os tubos, (exceto tubos «total cpm») por inversão simultânea com um suporte de espuma em um recipiente de descarte para material radioativo.
50 µL dos calibradores, controlos ou amostras, imediatamente adicione 200 µL do traçador.	Decante todos os tubos, (exceto tubos «total cpm») por inversão simultânea com um suporte de espuma em um recipiente de descarte para material radioativo.	Bata os tubos vigorosamente em papel absorvente para facilitar a completa drenagem.
Homogeneíze em Vórtex.	Bata os tubos vigorosamente em papel absorvente para facilitar a completa drenagem.	Bata os tubos vigorosamente em papel absorvente para a completa drenagem. Deixe decantar por 2 minutos em papel absorvente. Bata as gotas das bordas dos tubos.
	Adicione 3 mL de água deionizada para todos os tubos, exceto os de contagem total.	Conte a cpm ligada (B) e a cpm total (T) por 1 minuto.

\*Adicione 200 µL de traçador a 2 tubos adicionais para obtenção da «cpm total».

## RESULTADOS

Os resultados são obtidos a partir da curva padrão por interpolação. A curva é utilizada para a determinação das concentrações de testosterona livre em amostras dosadas ao mesmo tempo em que os calibradores.

### Curva Padrão

Os resultados do departamento de controlo de qualidade foram calculados utilizando um ajuste de curva *polinomial* com  $B/T$  ou  $B/B_0$  no eixo vertical linear e concentração de analito dos calibradores no eixo horizontal logarítmico (pg/mL).

Outros métodos de redução de dados podem dar resultados ligeiramente diferentes.

$ED_{50} = 3,710$  pg/mL

Atividade total: 62 502 cpm				
Calibradores	Testosterona Livre (pg/mL)	cpm (n=2)	B/T (%)	B/B <sub>0</sub> (%)
0	0	28 056	44,89	100,0
1	0,23	23 889	38,22	85,15
2	0,90	18 675	29,88	66,56
3	2,80	15 016	24,03	53,52
4	9,50	10 466	16,75	37,30
5	26,00	6682	10,69	23,82
6	50,00	4466	7,15	15,92
7	100,0	2989	4,78	10,66

(Exemplo de curva padrão, não utilize para cálculo)

## Amostras

Para cada amostra estabeleça a relação  $B/T$  ou  $B/B_0$  no eixo vertical da curva padrão e leia a concentração correspondente de testosterona livre nas amostras no eixo horizontal em pg/mL.

Para conversão de concentrações em pg/mL para pmol/L, multiplique o resultado por 3,47.

## VALORES ESPERADOS

Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores normais. Os valores apresentados a seguir foram obtidos usando amostras de soro de adultos aparentemente saudáveis.

Homens (Idade em anos)	n	Mediana (pg/mL)	Mín. (pg/mL)	Máx. (pg/mL)	Percentil 2,5 (pg/mL)	Percentil 97,5 (pg/mL)
20 - 29	30	15,40	7,54	27,79	8,68	25,09
30 - 39	30	14,94	6,77	22,36	8,85	21,40
40 - 49	30	11,48	7,37	20,47	7,56	18,64
50 e superior	30	9,05	4,52	15,05	5,72	14,21
Todos	120	12,35	4,52	27,79	6,76	22,76

Mulheres	n	Mediana (pg/mL)	Mín. (pg/mL)	Máx. (pg/mL)	Percentil 2,5 (pg/mL)	Percentil 97,5 (pg/mL)
Fase Folicular	32	1,48	0,59	4,28	0,64	3,41
Fase Lútea	32	1,44	0,59	3,31	0,60	2,95
Pico pré-ovulatório	21	1,51	0,81	3,79	0,90	3,79
Pós-menopausa	13	1,17	0,33	1,97	0,36	1,85
Contraceptivos	19	1,45	0,49	2,81	0,57	2,70

Mulheres aleatórias	n	Mediana (pg/mL)	Mín. (pg/mL)	Máx. (pg/mL)	Percentil 2,5 (pg/mL)	Percentil 97,5 (pg/mL)
Todos	120	1,29	0,33	4,28	0,49	2,87

Pode encontrar informação detalhada sobre os valores esperados nas crianças (de acordo com idade e género) no "APPENDIX".

## CONTROLO DE QUALIDADE

As boas práticas de laboratório implicam a execução regular do controlo para garantir a qualidade dos resultados obtidos. Estes controlos devem ser processados exactamente como as amostras do ensaio, e é recomendado que seus resultados sejam analisados utilizando um método estatístico adequado.

Falha na obtenção de valores apropriados pode indicar manipulação imprecisa, amostras impróprias ou deterioração dos reagentes. Em caso de deterioração da embalagem ou se o dado obtido mostrar-se alguma alteração de desempenho, por favor, contate o distribuidor local ou utilize o seguinte endereço de e-mail: [imunochem@beckman.com](mailto:imunochem@beckman.com).

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

(Para mais detalhes, veja o data sheet "APPENDIX")

São fornecidos dados representativos apenas para fins ilustrativos. O desempenho pode variar de um laboratório para outro.

### Sensibilidade

Limite de detecção (LD): 0,13 pg/mL

O LD para testosterona livre é de 0,13 pg/mL, determinado como sendo consistente com as diretrizes no documento EP17-A2 do CLSI [4] com base nas proporções de falsos-positivos ( $\alpha$ ) inferiores a 5% e falsos-negativos ( $\beta$ ) inferiores a 5%; utilizando determinações, com 120 amostras em branco e 120 amostras de nível baixo e Limite do Branco (LB) de 0,05 pg/mL.

Limite de quantificação (LQ): 0,37 pg/mL

O LQ de testosterona livre é de 0,37 pg/mL, determinado como sendo consistente com as diretrizes no documento EP17-A2 do CLSI [4] e como a concentração mais baixa, tendo sido alcançado o critério para o erro total máximo.

### Especificidade

O anticorpo utilizado no imunoensaio é altamente específico para testosterona livre. As reatividades cruzadas reduzidas foram obtidas de várias moléculas relacionadas.

## **Precisão**

### **Repetibilidade e precisão no laboratório**

A precisão do ensaio foi determinada como sendo consistente com as diretrizes no documento EP05-A3 do CLSI [5]. Para repetibilidade, foram encontrados coeficientes de variação inferiores ou iguais a 13,2% para amostras de soro. Para precisão no laboratório, foram encontrados coeficientes de variação inferiores ou iguais a 19,3% para amostras de soro.

### **Exactidão**

#### **Linearidade**

O ensaio demonstrou ser linear de 0,30 a 114,11 pg/mL utilizando amostras de soro (determinado como sendo consistente com as diretrizes no documento EP6-A do CLSI [6]).

**Intervalo de medição** (de LQ ao calibrador mais alto):

0,37 pg/mL a 100 pg/mL, aproximadamente

## **LIMITAÇÕES**

- O não cumprimento das instruções deste protocolo pode afectar significativamente os resultados.

- Falha na decantação dos tubos pode resultar e duplicatas pobres e resultados erróneos.
- Os resultados devem ser interpretados conjuntamente com a clínica do doente, incluindo história clínica, dados de testes adicionais e outras informações apropriadas.
- Evite repetidos ciclos de congelamento e descongelamento de amostras.
- Para obter mais informações, consulte a ficha de dados «ANEXO».
- Em ensaios que utilizam anticorpos, há possibilidade de interferência por anticorpos heterófilos nas amostras dos doentes. Os doentes expostos regularmente a animais, que receberam imunoterapia ou procedimentos de diagnóstico com imunoglobulinas ou fragmentos de imunoglobulinas podem produzir anticorpos, ex. HAMA, que interferem com os imunoensaios. Tais anticorpos interferentes podem causar resultados erróneos. Cos resultados destes doentes devem ser avaliados com cuidado.

## ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

### RADIOIMMUNANALYS FÖR KVANTITATIV MÄTNING AV FRITT TESTOSTERON I HUMANT SERUM DENNA ANALYS ÄR AVSEDD FÖR IN VITRO-DIAGNOSTIK

#### PRINCIP

Radioimmunanalysen av fritt testosteron är en kompetitiv analys. Proceduren följer den grundläggande principen om radioimmunanalys där det finns konkurrens mellan ett radioaktivt och ett icke-radioaktivt antigen för ett fast antal bindningsställen [1] på antikroppar. Mängden av <sup>125</sup>I-märkt testosteronanalogue bundet till antikroppen är omvänt proportionellt mot koncentrationen av förekommande omärkt fritt testosteron. Separationen av fritt och bundet antigen uppnås genom att dekantera eller aspirera antikroppsbelagda rör. En standardkurva konstrueras och okända värden av fritt testosteron erhålls från kurvan genom interpolation.

Sammanfattning och Förklaring av testet finns i BILAGAN.

#### VARNING OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

Allmänna kommentarer:

- För *in vitro* diagnostiskt bruk.
- Kalibrator- och kontrollflaskorna skall hållas öppna så kort stund som möjligt för att undvika onödig avdunstning.
- Blanda inte reagens från kit med olika batchnummer.
- Använd inte någon del av denna produkt efter bäst före-datum som finns angivet på ampullens etikett.
- Standardkurva måste ingå vid varje analystillfälle.
- Det rekommenderas att analysen utförs som dubbelprov.
- Kalibratorer och kontroller skall blandas före genom att vända flaskan/röret försiktigt. Vortexa ej.

#### Grundregler för strålnings säkerhet

Inköp, innehav och transport av radioaktivt material är föremål för regelverket i det land som använder materialet.

- Intag av mat och dryck, rökning eller användande av kosmetika får inte ske i närvaro av radioaktiva material.
- Ingen pipettering med munnen.
- Undvik all hudkontakt med radioaktivt material genom att använda handskar och labbrock.
- All manipulation av radioaktiva ämnen ska göras på lämplig plats, på avstånd från korridorer och andra områden med mycket människor.
- Radioaktivt material ska förvaras i behållaren och i ett för ändamålet avsett område.
- Ett dokument över alla mottagna och förvarade radioaktiva produkter ska hållas uppdaterat.
- Laboratorieutrustning och glasvaror, vilka är föremål för kontamination, ska hållas åtskilda för att förebygga smitta mellan olika radioisotoper.
- Varje fall av radioaktiv kontaminering eller förlust av radioaktivt material ska lösa enligt gällande bestämmelser.
- Radioaktivt avfall ska hanteras enligt de bestämmelser som gäller i respektive land.

#### Natriumazid

Vissa reagenser innehåller natriumazid som konserveringsmedel. Natriumazid kan reagera med bly- och kopparrör och bilda högexplosiva metallazider. Vid kassering av vätskor ska man spola med en stor mängd vatten för att förhindra azidansamling [2].

#### Material av humant ursprung

Patientprover och blodhärledda produkter kan behandlas enligt beskrivning med minimal risk. Produkterna ska emellertid hanteras som misstänkt smittförande i enlighet med allmänna försiktighetsprinciper och god klinisk laboratoriepraxis, oavsett deras ursprung, behandling eller tidigare intyg. Använd lämpligt desinfektionsmedel för dekontaminering. Förvara och kassera dessa material och tillhörande behållare i enlighet med lokala regler och riktlinjer.

## RISKKLASSIFICERING ENLIGT GHS

Ej kategoriserad som farligt

**SDS**

Säkerhetsdatablad finns på [techdocs.beckmancoulter.com](http://techdocs.beckmancoulter.com)

### PROVINSAMLING, BEARBETNING, FÖRVARING OCH UTSPÄDNING

- Serum är rekommenderad provtyp.
- Låt serumproverna koagulera helt innan centrifugering.
- Serumprover kan förvaras vid 2–8 °C, om analysen ska utföras inom 24 timmar. För längre förvaring kan prover hållas nedfrysade vid < -20 °C i upp till 2 månader [3]. Det rekommenderas att förbereda portioner för att undvika upprepade nedfrysning och upptining. Upptining av prover bör ske vid rumstemperatur.
- Frysta prover ska tinas och blandas noggrant genom att försiktigt snurra eller vända dem före användning.
- Prov med ett avläsningsvärde över koncentrationen av högsta kalibratören skall inte spädas. Utspädning kommer att förändra andelen fritt till bundet testosteron.

### MEDFÖLJANDE MATERIAL

Alla öppnade reagenser i satsen är stabila fram till det utgångsdatum som anges på satsetiketten, vid förvaring vid 2–8 °C. Utgångsdatum på ampulletiketterna gäller enbart för långtidsförvaring av komponenter från tillverkaren, innan satsen monteras. Ta inte detta i beaktande.

Förvaringsförhållanden för öppnade reagenser anges i avsedda stycken.

**Antikroppsbelagda rör med fritt testosteron: 2 x 50 rör (klara att använda)**

Plaströr med kanin-anti-testosteron-immunglobulin immobiliserat på innerväggen av varje rör.

**<sup>125</sup>I-märkt testosteronanalogue, spårämne (GUL): en 22 mL flaska (klar att använda)**

Vid tidpunkten för tillverkningen innehåller flaskan 185 kBq, (<5 µCi), av <sup>125</sup>I-märkt testosteronanalogue i buffert med proteiner (BSA), natriumazid (<0,1 %) och ett färgämne.

**Kalibratorer: en 1,0 mL flaska märkt med 0, och sju 0,5 mL flaskor märkta 1-7 (färdiga att använda)**

Kalibreringsflaskorna innehåller från 0 till ca 100 pg/mL (0 till ungefär 346,7 pmol/L) av fritt testosteron i humant serum med natriumazid (< 0,1 %, se Varningar och försiktighetsåtgärder). Den exakta koncentrationen anges på varje flasketikett. Öppnad förvaras den vid 2-8 °C i upp till 3 veckor, eller vid < -20 °C fram till satsens utgångsdatum. Kalibratorvärdena fastställdes med hjälp av en intern standard.

**Kontroller: två 0,5 mL flaskor märkta 1, 2 (klara att använda)**

Flaskorna innehåller fritt testosteron i humant serum med natriumazid (<0,1 %; se Varningar och försiktighetsåtgärder). De förväntade värdena ligger inom koncentrationsintervallet som anges i ett tillägg som finns i satsen. Öppnade förvaras de vid 2-8 °C i upp till 3 veckor, eller vid < -20 °C fram till satsens utgångsdatum.

### MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE MEDFÖLJER

Förutom standard laboratorieutrustning, behövs följande:

- 12 x 75 mm provrör i plast eller glas för total counts.
- Rörställ för 12 x 75 mm rör.
- Precisionsmikropipett (50 µL).
- Halvautomatisk pipett (200 µL, 3,0 mL).
- Avjoniserat vatten.
- Virvelblandare (Vortex).
- Temperaturreglerat vattenbad, 37 °C ± 2 °C.
- En svampställ eller liknande anordning för dekantering.
- Absorberande material för att torka rören.
- Gammaräknare för 125 jod.

## METODBESKRIVNING

### Preparering av reagens

Låt alla reagens få rumstemperatur och blanda noga genom att vända förpackningen försiktigt före användning.

### Analysens förfarande

Analysera kalibratorer, kontroller och patientproverna i duplikat.

Step 1 Tillsatser	Step 2 Inkubering och tvätt	Step 3 Tvätt och räkning av antal counts
Tillsätt följande successivt till botten på antikroppsbelagda rör:  50 µL kalibrator, kontroll eller prov, tillsätt omedelbart 200 µL spårämne.  Blanda med vortex.	Täck och inkubera i 60 minuter i vattenbad vid $37 \pm 2$ °C.  Dekatera alla rör, (förutom "totalt cpm"-rör), genom samtidig inversion med ett svampställ i en radioaktiv avfallsbehållare.  Knacka rören kraftigt på det absorberande materialet för att underlätta fullständig dränering.  Tillsätt 3,0 mL avjoniserat vatten till alla rör utom "totalt cpm"-rör.	Dekatera alla rör, (förutom "totalt cpm"-rör), genom samtidig inversion med ett svampställ i en radioaktiv avfallsbehållare.  Knacka rören kraftigt på det absorberande materialet för att underlätta fullständig dränering.  Låt rinna av på absorberande material i minst 2 minuter. Torka av droppar från rören kanter.  Räkna bundet cpm (B) och total cpm (T) under 1 minut.

\*Tillsätt 200 µL av spårämne till 2 ytterligare rör för att erhålla "totalt cpm".

## RESULTAT

Resultaten erhålls från standardkurvan genom interpolation. Kurvan används för bestämning av koncentrationer av fritt testosteron i prover, uppmätt vid samma tidpunkt som kalibratorerna.

### Standardkurva

Resultaten i avdelningen för kvalitetskontroll beräknades med *spline*-kurvan anpassad med  $B/T$  eller  $B/B_0$  för lin på den vertikala axeln och analytkoncentrationen för kalibratorerna på den logaritmiska horisontella axeln (pg/mL).

Andra datareduceringsmetoder kan ge något annorlunda resultat.

$ED_{50} = 3,710$  pg/mL

Total aktivitet: 62 502 cpm				
Kalibrator	Fritt testosteron (pg/mL)	cpm (n=2)	B/T (%)	B/B <sub>0</sub> (%)
0	0	28 056	44,89	100,0
1	0,23	23 889	38,22	85,15
2	0,90	18 675	29,88	66,56
3	2,80	15 016	24,03	53,52
4	9,50	10 466	16,75	37,30
5	26,00	6 682	10,69	23,82
6	50,00	4 466	7,15	15,92
7	100,0	2 989	4,78	10,66

(Exempel på standardkurva, använd ej för beräkning)

### Prov

För varje prov lokalisera förhållandet B/T eller B/B<sub>0</sub> på den vertikala axeln av standardkurvan och läs av motsvarande koncentration av fritt testosteron i provet på den horisontella axeln i pg/mL.

Multipluera resultatet med 3,47 för att konvertera koncentrationer från pg/mL till pmol/L.

## FÖRVÄNTAT VÄRDE

Varje laboratorium bör fastställa sina egna referensintervall. Följande värden erhöles med hjälp av serumprover från till synes normala friska vuxna.

Män (ålder i år)	n	Median (pg/mL)	Min (pg/mL)	Max (pg/mL)	2,5:e percentilen (pg/mL)	97,5:e percentilen (pg/mL)
20 - 29	30	15,40	7,54	27,79	8,68	25,09
30 - 39	30	14,94	6,77	22,36	8,85	21,40
40 - 49	30	11,48	7,37	20,47	7,56	18,64
50 och högre	30	9,05	4,52	15,05	5,72	14,21
Alla	120	12,35	4,52	27,79	6,76	22,76

Kvinnor	n	Median (pg/mL)	Min (pg/mL)	Max (pg/mL)	2,5:e percentilen (pg/mL)	97,5:e percentilen (pg/mL)
Follikulär fas	32	1,48	0,59	4,28	0,64	3,41
Luteal fas	32	1,44	0,59	3,31	0,60	2,95
Preovulatorisk topp	21	1,51	0,81	3,79	0,90	3,79
Postmenopausal	13	1,17	0,33	1,97	0,36	1,85
Preventivmedel	19	1,45	0,49	2,81	0,57	2,70

Slumpmässig kvinna	n	Median (pg/mL)	Min (pg/mL)	Max (pg/mL)	2,5:e percentilen (pg/mL)	97,5:e percentilen (pg/mL)
Alla	120	1,29	0,33	4,28	0,49	2,87

Detaljerad information om förväntade värden för barn (sorterad efter ålder och kön) finns i databladet "APPENDIX".

## KVALITETSKONTROLL

God laboratorie praxis innefattar regelbunden användning av kontroller, för att erhålla försäkringen om att kvaliteten bibehålls. Kontrollerna måste behandlas på exakt samma sätt som proverna och det rekommenderas att resultaten beräknas med hjälp av lämpliga statistiska metoder.

Om korrekt kontrollvärde ej fås indikerar detta felaktig provhantering eller att reagens behandlats felaktigt eller annan manipulering. Om förpackningen är skadad eller om erhållna data indikerar förändring av prestanda kontakta er lokala distributör eller använd följande e-mail adress: immunochem@beckman.com.

## PRESTANDAEGENSKAPER

(För mer detaljer, se APPENDIX)

Representativa data är endast avsedda som exempel. Resultaten i enskilda laboratorier kan variera.

### Sensitivitet

Detektionsgräns (LoD): 0,13 pg/mL

LoD för fritt testosteron är 0,13 pg/mL, fastställt konsekvent med riktlinjerna i CLSI-dokument EP17-A2 [4] baserat på proportionerna falska positiva ( $\alpha$ ) mindre än 5 % och falska negativa ( $\beta$ ) mindre än 5 %; med hjälp av bestämmingar, med 120 blank- och 120 lågnivåprov, samt Blankgräns (LoB) på 0,05 pg/mL.

Kvantiteringsgräns (LoQ): 0,37 pg/mL

LoQ för fritt testosteron är 0,37 pg/mL, fastställt som konsekvent med riktlinjerna i CLSI-dokumentet EP17-A2 [4] som den lägsta koncentrationen för kriterierna för maximalt totalt fel uppnåddes.

### Specifitet

Antikroppen som används i immunanalysen är högt specifikt för fritt testosteron. Låga korsreaktiviteter erhöles gentemot flera relaterade molekyler.

### Precision

#### Repeterbarhet och laboratorie-intern noggrannhet

Analysens noggrannhet fastställdes enligt riktlinjerna i CLSI-dokument EP05-A3 [5]. För repeterbarhet återfanns variationssamverkan vara under eller motsvarande 13,2 % för serumprover. För laboratorie-intern noggrannhet återfanns variationssamverkan vara under eller motsvarande 19,3 % för serumprover.

### Noggrannhet

#### Linearitet

Analysen demonstrerades vara linjär från 0,30 till 114,11 pg/mL med serumprover (fastställd som konsekvent med riktlinjerna i CLSI-dokument EP6-A [6]).

Måttintervall (från LoQ till den högsta kalibratorm):

0,37 pg/mL till ungefär 100 pg/mL

## BEGRÄNSNINGAR

- Underlåtenhet att följa denna bruksanvisning kan påverka resultaten avsevärt.
  - Underlåtenhet att torka rör ordentligt efter dekantering kan resultera i dålig replikering och falska resultat.
  - Resultaten ska tolkas i ljuset av patientens totala kliniska bild, inklusive klinisk historik, data från ytterligare prover och annan väsentlig information.
  - Undvik upprepad frysning och upptining av reagenser eller prover.
  - Mer information finns i databladet "BILAGA".
- För analyser som använder antikroppar finns alltid risk för interferens av heterofila antikroppar hos patientprovet. Patienter som regelbundet har kontakt med djur eller har erhållit immunterapi eller annan diagnostisk procedur som använder immunoglobuliner eller immunoglobulin fragments kan producera antikroppar t ex HAMA, vilka interfererar i immunanalyser. Dylikt interfererande antikroppar kan förorsaka felaktiga resultat. Evaluera därför resultaten noggrant från patienter vilka kan misstänkas ha dessa antikroppar.
-

# ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

## ΑΝΟΣΟΡΑΔΙΟΜΕΤΡΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΣΟΤΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΤΕΣΤΟΣΤΕΡΟΝΗΣ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΟ Ο ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΥΤΟΣ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO.

### ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Η ανοσοραδιομετρική εξέταση της ελεύθερης τεστοστερόνης είναι μια εξέταση ανταγωνισμού [1]. Η ποσότητα της σημασμένης με [<sup>125</sup>I] ανάλογου της τεστοστερόνης που είναι δεσμευμένη στο αντίσωμα είναι αντιστρόφως ανάλογη προς τη συγκέντρωση της υπάρχουσας Τεστοστερόνης. Ο διαχωρισμός ελεύθερου και δεσμευμένου αντιγόνου επιτυγχάνεται μέσω μεταγγίσης ή αναρρόφησης των επιστρωμένων με αντίσωμα σωληναρίων.

**Βλέπε τη σελίδα “APPENDIX” Περιληψη και επεξηγηση της εξετασης**

### ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Γενικές παρατηρήσεις:

- Για διαγνωστική χρήση ευτός δοκιμαστικού σωλήνα.
- Τα φιαλίδια των ορών βαθμονόμησης και των ορών ελέγχου πρέπει να ανοίγονται όσο το δυνατόν λιγότερο, προς αποφυγήν εξατμίσεως του περιεχομένου.
- Μην ανακατεύετε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες.
- Μη χρησιμοποιείτε οποιοδήποτε αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του.
- Κάνετε ταυτόχρονα την πρότυπη καμπύλη και τον ποσοτικό προσδιορισμό των δειγμάτων.
- Σας συστήνεται να πραγματοποιείτε δύο φορές τον κάθε προσδιορισμό.
- οι βαθμονομητές και οι οροί ελέγχου πρέπει να ανακατεύονται ελεφρά με το χέρι παρά να γίνεται χρήση του vortex.

### Προστασία από την ιονίζουσα ακτινοβολία

Η αγορά, η κατοχή, η χρήση και η μεταφορά του ραδιενεργού υλικού υπόκεινται στους κανονισμούς της χώρας στην οποία το υλικό αυτό χρησιμοποιείται. Η συμμόρφωση με τους βασικούς κανόνες ασφάλειας από την ακτινοβολία παρέχει επαρκή προστασία :

- Υπό την παρουσία ραδιενεργών υλικών μην καταναλώνετε τρόφιμα ή ποτά, μην καπνίζετε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά.
- Μην αναρροφείτε υγρά του εργαστηρίου με το στόμα δίκην πιπέτας.
- Αποφύγετε κάθε επαφή με ραδιενεργά υλικά, και χρησιμοποιείτε γάντια και εργαστηριακή μπλούζα.
- Κάθε χειρισμός ραδιενεργών ουσιών πρέπει να γίνεται σε κατάλληλο χώρο, μακριά από διαδρόμους και άλλα πολυσύχναστα μέρη.
- Τα ραδιενεργά υλικά πρέπει να φυλάσσονται στον προβλεπόμενο περιέκτη και σε προκαθορισμένο χώρο.
- Το αρχείο παραλαβής και αποθήκευσης ραδιενεργών υλικών πρέπει να είναι πάντα ενημερωμένο.
- Ο εργαστηριακός εξοπλισμός ή τα γυάλινα σκεύη που έχουν μολυνθεί από ραδιενεργά υλικά πρέπει να απομονώνονται, προκειμένου να αποφευχθεί μόλυνση από διαφορετικά ραδιοϊσότοπα.
- Κάθε περίπτωση ραδιενεργής μόλυνσης ή απώλειας ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να επιλύεται με βάση τις ισχύουσες διαδικασίες.
- Ο χειρισμός των ραδιενεργών αποβλήτων πρέπει να ακολουθεί τους κανονισμούς της χώρας στην οποία χρησιμοποιείται το ραδιενεργό υλικό.

### Αζίδιο του Νατρίου

Κάποια αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό. Το αζίδιο του νατρίου μπορεί να αντιδράσει με το μόλυβδο και το χαλκό της υδραυλικής εγκατάστασης και να σχηματίσει εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Κατά την απόρριψη των υγρών διοχετεύστε μεγάλες ποσότητες νερού στο σύστημα αποχέτευσης για να αποφύγετε τη σταδιακή συγκέντρωση αζιδίου [2].

### Υλικό ανθρώπινης προέλευσης

Η επεξεργασία των δειγμάτων ασθενών και των προϊόντων που προέρχονται από αίμα μπορεί να γίνει τακτικά με ελάχιστη πιθανότητα κινδύνου

PI-DSL4900-11

χρησιμοποιώντας τη διαδικασία που περιγράφηκε προηγουμένως. Ωστόσο, χειριστείτε τα προϊόντα αυτά ως πιθανές μολυσματικές ουσίες σύμφωνα με τις γενικές προφυλάξεις και τις καλές τακτικές κλινικών εργαστηρίων ανεξάρτητα από την προέλευση, το χειρισμό ή την προηγούμενη πιστοποίησή τους. Για απολύμανση χρησιμοποιήστε ένα κατάλληλο μέσο αφαίρεσης επικινδύνων ή ανεπιθύμητων προσμίξεων. Φυλάξτε και απορρίψτε τα υλικά αυτά και τους περιέκτες τους σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς και τις κατευθυντήριες γραμμές.

### ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ ΠΕΣ

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο

**SDS**

Το Δελτίο δεδομένων ασφάλειας είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση [techdocs.beckmancoulter.com](http://techdocs.beckmancoulter.com)

### ΣΥΛΛΟΓΗ, ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ, ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΑΡΑΙΩΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- Συλλέξτε το αίμα σε στεγνά σωληνάκια.
- Αφήστε τα δείγματα ορού να πήξουν εντελώς πριν τη φυγοκέντρηση.
- Ο ορός μπορεί να φυλαχτεί σε θερμοκρασία 2-8 °C για διάστημα έως και 24 ωρών και θα πρέπει να καταψύχεται στους -20 °C ή σε χαμηλότερη θερμοκρασία, για μεγαλύτερες περιόδους, μέχρι 2 μήνες [3]. Η απόψυξη των δειγμάτων πρέπει να γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου.
- Τα αποψυχθέντα δείγματα πρέπει να αναμειχτούν καλά με ανακίνηση πριν την εξέταση.
- Κάθε δείγμα που δώσει τιμή αποτελέσματος μεγαλύτερη από το ψηλότερο βαθμονομητή, ΔΕΝ πρέπει να αραιωθεί γιατί θα αλλάξει την αναλογία ελεύθερης με δεσμευμένης τεστοστερόνης.

### ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

Όσα αντιδραστήρια από τη συσκευασία δεν έχουν ανοιχτεί παραμένουν σταθερά έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα της συσκευασίας, εφόσον φυλάσσονται στους 2-8 °C. Οι ημερομηνίες λήξης που αναγράφονται στις ετικέτες των φιαλιδίων ισχύουν μόνο για τη μακροπρόθεσμη φύλαξη των συστατικών από τον κατασκευαστή για το διάστημα προτού μπουν στη συσκευασία. Μην τις λαμβάνετε υπόψη.

Οι συνθήκες αποθήκευσης για ανοιγμένα αντιδραστήρια αναφέρονται στις ανάλογες παραγράφους.

**Σωληνάκια επιστρωμένα με αντι- τεστοστερόνη: 2 x 50 σωληνάκια** (έτοιμα προς χρήση)

Πλαστικά σωληνάκια με ανοσοσφαιρίνη αντι-τεστοστερόνη κουνελίου ακινητοποιημένη στο εσωτερικό τοίχωμα κάθε σωληναρίου.

**Ιχνηθέτης ανάλογο της τεστοστερόνης επισημασμένο με <sup>125</sup>I (ΚΙΤΡΙΝΟ): 1 φιαλίδιο των 22 mL** (έτοιμο προς χρήση)

Το φιαλίδιο περιέχει, την ημέρα που παρασκευάζεται, 185 kBq (<5 μCi), επισημασμένου με <sup>125</sup>I ανάλογο της τεστοστερόνης σε ρυθμιστικό που περιέχει πρωτεΐνες, αζίδιο του Νατρίου (<0,1%) και μια χρωστική.

**Βαθμονομητές : 1 φιαλίδιο των 1,0 mL (0) + 7 φιαλίδια των 0,5 mL (1-7)** (έτοιμα προς χρήση)

Τα βαθμονομητές φιαλίδια περιέχουν μεταξύ από 0 μέχρι κατά προσέγγιση 100 pg/mL (0 μέχρι κατά προσέγγιση 346,7 pmol/L) ελεύθερη τεστοστερόνη σε ανθρώπινο ορό με αζίδιο του Νατρίου (<0,1%). Οι ακριβείς συγκεντρώσεις αναγράφονται στην ετικέτα κάθε φιαλιδίου. Μόλις ανοιχτούν, διατηρούνται στους 2-8 °C για 3 εβδομάδες, ή στους < -20 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης του ραδιοφαρμάκου. Οι τιμές των βαθμονομητών έχουν υπολογιστεί χρησιμοποιώντας εσωτερικά δεδομένα.

**Δείγματα ελέγχου: 2 φιαλίδια του 0,5 mL** (έτοιμα προς χρήση)

Τα φιαλίδια περιέχουν ελεύθερη τεστοστερόνη αφυδατωμένη σε ανθρώπινο ορό με αζίδιο του Νατρίου (<0,1%). Οι αναμενόμενες τιμές είναι στη σειρά συγκέντρωσης που αναγράφεται στο συμπλήρωμα. Μόλις ανοιχτούν, διατηρούνται στους 2-8 °C για 3 εβδομάδες, ή στους < -20 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης του ραδιοφαρμάκου.

### ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Ο απαιτούμενος εργαστηριακός εξοπλισμός, επιπλέον του συνήθους, είναι ο εξής:

- πλαστικά ή γυάλινα δοκιμαστικά σωληνάκια 12 x 75 mm για τις μετρήσεις του ιχνηθέτη (Total).
- Έδρανο σωληναρίων δοκιμασιών για 12 x 75 mm σωληνάκια.
- Μικροπιπέτες ακριβείας (50 μL).

- ημιαυτόματες πιπέτες (200 μL, 3,0 mL)
- Απιονισμένο νερό.
- Αναδευτήρας τύπου vortex.
- υδατόλουτρο 37 ± 2 °C.
- Ένα έδρανο με σπόγγο ή παρόμοια συσκευή για απόχυση.
- Απορροφητικό υλικό για. σωληνάρια ανοσοαποτύπωσης (blotting).
- Gamma counter, σετ για Ιώδιο 125.

## ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

### Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Αφήστε τα αντιδραστήρια να επανέλθουν σε θερμοκρασία δωματίου και αναμείξτε καλά αναστρέφοντας ελαφρά το φιαλίδιο πριν τη χρήση.

### Διαδικασία εξέτασης

Εκτελέστε εις διπλούν προσδιορισμό των βαθμονομητών, των ορών ελέγχου και των δειγμάτων των ασθενών.

Βήμα 1 Προσθήκες	Βήμα 2 Επώαση & Πλύσιμο	Βήμα 3 Μέτρηση
<p>Στα επιστρωμένα σωληνάρια, προσθέστε διαδοχικά:</p> <p>50 μL βαθμονομητή, ορού ελέγχου ή δείγματος και 200 μL ιχνηθέτη.*</p>	<p>Επώαση 1 ώρα στους 37 ± 2° C όλα τα σωληνάρια.</p> <p>Αναρροφήστε ή μεταγγίστε όλα τα σωληνάρια, εκτός από εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη (Total), με ταυτόχρονη αναστροφή με μια σπογγώδη βάση μέσα σε ένα δοχείο ραδιενεργών αποβλήτων.</p> <p>Χτυπήστε τα σωληνάρια απότομα σε απορροφητικό υλικό για να επιταχυνθεί το στέγνωμα.</p>	<p>Αναρροφήστε ή μεταγγίστε όλα τα σωληνάρια, εκτός από εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη (Total), με ταυτόχρονη αναστροφή με μια σπογγώδη βάση μέσα σε ένα δοχείο ραδιενεργών αποβλήτων.</p> <p>Χτυπήστε τα σωληνάρια απότομα σε απορροφητικό υλικό για να επιταχυνθεί το στέγνωμα.</p> <p>Στραγγίστε πάνω σε απορροφητικό υλικό τουλάχιστον για 2 λεπτά. Αφαιρέστε πιθανές σταγόνες από το χείλος των σωληναρίων.</p> <p>Μετρήστε το δεσμευμένο cpm (B) και το συνολικό cpm (T) για 1 λεπτό.</p>
<p>Ανακατέψτε στο vortex.</p>	<p>Προσθέστε σε όλα τα σωληνάρια 3,0 mL απιονισμένο νερό, με την εξαίρεση των σωληνίων "συνολικών κρούσεων".</p>	

\*Προσθέστε 200 μL ιχνηθέτη στα 2 σωληνάρια για να βρείτε τις ολικές κρούσεις.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα των δειγμάτων υπολογίζονται με παρεμβολή στην πρότυπη καμπύλη. Η καμπύλη χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων ελεύθερης τεστοστερόνης σε δείγματα που μετρώνται ταυτόχρονα με τα βαθμονομητές.

### Πρότυπη καμπύλη

Τα αποτελέσματα στο τμήμα ποιοτικού ελέγχου υπολογίστηκαν με τη χρήση της καμπύλης προσαρμογής μοντέλου *spline* με τον λόγο *B/T* ή *B/B<sub>0</sub>* στον κάθετο άξονα *lin* και τη συγκέντρωση της αναλυόμενης ουσίας των βαθμονομητών στον οριζόντιο άξονα *log* (pg/mL).

Άλλες μέθοδοι αναγωγής των δεδομένων μπορεί να δώσουν ελαφρώς διαφορετικά αποτελέσματα.

ED<sub>50</sub> = 3,710 pg/mL

Ολική ραδιενέργεια: 62.502 cpm				
Βαθμονομητές	Ελεύθερη τεστοστερόνη (pg/mL)	cpm (n=2)	B/T (%)	B/B <sub>0</sub> (%)
0	0	28.056	44,89	100,0
1	0,23	23.889	38,22	85,15
2	0,90	18.675	29,88	66,56
3	2,80	15.016	24,03	53,52
4	9,50	10.466	16,75	37,30
5	26,00	6.682	10,69	23,82
6	50,00	4.466	7,15	15,92
7	100,0	2.989	4,78	10,66

(Παράδειγμα πρότυπης καμπύλης, να μη χρησιμοποιηθεί σε υπολογισμούς)

### Δείγματα

Σημειώστε τον λόγο *B/T* ή *B/B<sub>0</sub>* στον κάθετο άξονα, έπειτα το αντίστοιχο σημείο στην καμπύλη και διαβάστε στον οριζόντιο άξονα την αντίστοιχη συγκέντρωση ελεύθερης τεστοστερόνης σε pg/mL.

Για να μετατρέψετε τις συγκεντρώσεις από pg/mL στο pmol/L, πολλαπλασιάστε τα αποτελέσματα με 3.47.

## ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Προτείνουμε το κάθε εργαστήριο να καθιερώσει τις δικές του τιμές αναφοράς. Οι τιμές που ακολουθούν προέκυψαν από υγιή άτομα και είναι απλώς ενδεικτικές. Οι συγκεντρώσεις ορού ελεύθερης τεστοστερόνης στον πίνακα προέκυψαν από υγιείς ασθενείς.

Άνδρες (Ηλικία σε έτη)	n	Διάμεση τιμή (pg/mL)	Ελάχ. (pg/mL)	Μέγ. (pg/mL)	2,5 <sup>ο</sup> εκατοστη-μόριο (pg/mL)	97,5 <sup>ο</sup> εκατοστη-μόριο (pg/mL)
20 - 29	30	15,40	7,54	27,79	8,68	25,09
30 - 39	30	14,94	6,77	22,36	8,85	21,40
40 - 49	30	11,48	7,37	20,47	7,56	18,64
50 και άνω	30	9,05	4,52	15,05	5,72	14,21
Όλες	120	12,35	4,52	27,79	6,76	22,76

Γυναίκες	n	Διάμεση τιμή (pg/mL)	Ελάχ. (pg/mL)	Μέγ. (pg/mL)	2,5 <sup>ο</sup> εκατοστη-μόριο (pg/mL)	97,5 <sup>ο</sup> εκατοστη-μόριο (pg/mL)
Θυλακιάδης φάση	32	1,48	0,59	4,28	0,64	3,41
Ωχρινική φάση	32	1,44	0,59	3,31	0,60	2,95
Ωοθυλακιορρηξία	21	1,51	0,81	3,79	0,90	3,79
Μετά την εμμηνόπαυση	13	1,17	0,33	1,97	0,36	1,85
Αντισυλληπτικά	19	1,45	0,49	2,81	0,57	2,70

Τυχαίο δείγμα γυναικών	n	Διάμεση τιμή (pg/mL)	Ελάχ. (pg/mL)	Μέγ. (pg/mL)	2,5 <sup>ο</sup> εκατοστη-μόριο (pg/mL)	97,5 <sup>ο</sup> εκατοστη-μόριο (pg/mL)
Όλες	120	1,29	0,33	4,28	0,49	2,87

Λεπτομερής περιγραφή πληροφοριών σχετικά με τις αναμενόμενες τιμές για παιδιά (ανά ηλικία και φύλο), παραθέτονται στο φύλλο "APPENDIX".

## ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Σύμφωνα με τις καλές εργαστηριακές πρακτικές τα δείγματα ελέγχου πρέπει να χρησιμοποιούνται τακτικά για να διασφαλίζεται η ποιότητα των λαμβανόμενων αποτελεσμάτων. Η επεξεργασία των εν λόγω ορών ελέγχου πρέπει να γίνεται ακριβώς με τον ίδιο τρόπο όπως και για τα δείγματα των ασθενών και συνιστάται να γίνεται ανάλυση των αποτελεσμάτων με τη χρήση των κατάλληλων στατιστικών μεθόδων.

Σε περίπτωση επιδείνωσης συσκευασίας ή εάν τα αποτελέσματα που προέκυψαν έχουν τροποποίηση απόδοσης, παρακαλώ ελάτε σε επαφή με τον τοπικό διανομέα σας ή χρησιμοποιήστε την ακόλουθη διεύθυνση ηλεκτρονικού ταχυδρομείου: [imunochem@beckman.com](mailto:imunochem@beckman.com)

## ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

(Για περισσότερες λεπτομέρειες, βλ. APPENDIX)

Τα αντιπροσωπευτικά δεδομένα παρέχονται μόνο ως παράδειγμα. Η απόδοση που επιτυγχάνεται σε κάθε εργαστήριο μπορεί να διαφέρει.



## Ευαισθησία

**Όριο ανίχνευσης (OA):** 0,13 pg/mL

Το OA για την ελεύθερη τεστοστερόνη είναι 0,13 pg/mL, προσδιορισμένο σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του εγγράφου EP17-A2 [4] του CLSI, βάσει των αναλογιών ψευδώς θετικών (α) κάτω του 5% και ψευδώς αρνητικών (β) κάτω του 5%, με χρήση προσδιορισμών, με 120 τυφλά δείγματα, 120 δείγματα χαμηλού επιπέδου και Όριο Τυφλού (OT) 0,05 pg/mL.

**Όριο Ποσοτικοποίησης (OP):** 0,37 pg/mL

Το OP για την ελεύθερη τεστοστερόνη είναι 0,37 pg/mL, τιμή σύμφωνη με τις κατευθυντήριες οδηγίες του εγγράφου EP17-A2 [4] του CLSI ως η χαμηλότερη συγκέντρωση στην οποία ικανοποιείται το κριτήριο μέγιστου συνολικού σφάλματος.

## Εξειδίκευση

Το αντισώμα που χρησιμοποιείται στον ανοσοπροσδιορισμό έχει υψηλή ειδικότητα για την ελεύθερη τεστοστερόνη. Παρατηρήθηκαν χαμηλές διασταυρούμενες αντιδραστικότητες με αρκετά συναφή μόρια.

## Ακρίβεια

### Επαναληψιμότητα και ενδοεργαστηριακή ακρίβεια

Η ακρίβεια της ανάλυσης προσδιορίστηκε σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του εγγράφου EP05-A3 [5] του CLSI. Ως προς την επαναληψιμότητα, οι συντελεστές μεταβλητότητας βρέθηκαν να είναι χαμηλότεροι ή ίσοι με 13,2% για τα δείγματα ορού. Ως προς την ενδοεργαστηριακή ακρίβεια, οι συντελεστές μεταβλητότητας βρέθηκαν να είναι χαμηλότεροι ή ίσοι με 19,3% για τα δείγματα ορού.

## Ακρίβεια

### Γραμμικότητα

Η ανάλυση αποδείχθηκε γραμμική από 0,30 έως 114,11 pg/mL με χρήση δειγμάτων ορού (τιμή σύμφωνη με τις κατευθυντήριες οδηγίες του εγγράφου EP6-A [6] του CLSI).

**Εύρος μέτρησης** (από το OP έως τον υψηλότερο βαθμονομητή):

0,37 pg/mL έως περίπου 100 pg/mL

## ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- Η μη τήρηση των συγκεκριμένων οδηγιών χρήσης μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τα αποτελέσματα.
- Η ανεπαρκής ξήρανση σωλήνων μετά το διαχωρισμό μπορεί να οδηγήσει σε ανακριβή αποτελέσματα.
- Τα αποτελέσματα πρέπει να ερμηνευθούν λαμβάνοντας υπόψη τη συνολική κλινική παρουσίαση της ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων της κλινικής ιστορίας, των δεδομένων από συμπληρωματικές εξετάσεις και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.
- Αποφύγετε την επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη των δειγμάτων ή αντιδραστηρίων.
- βλ. τε η σελίδα APPENDIX για περισσότερες λεπτομέρειες.
- Υφίσταται η πιθανότητα παρεμβολής ετερόφιλων αντισωμάτων στο δείγμα του ασθενούς. Οι ασθενείς που έχουν τακτική έκθεση σε ζώα ή έχουν υποβληθεί σε ανοσοθεραπεία ή σε διαγνωστικές διαδικασίες που χρησιμοποιούν ανοσοσφαιρίνες ή τμήματα ανοσοσφαιρινών ενδέχεται να παραγάγουν αντισώματα, π.χ. HAMA, που παρεμβάλλονται στους ανοσολογικούς προσδιορισμούς. Τέτοια παρεμβαλλόμενα αντισώματα μπορεί να οδηγήσουν σε λανθασμένα αποτελέσματα. Αξιολογήστε προσεκτικά τα αποτελέσματα των ασθενών στους οποίους υπάρχει υποψία ύπαρξης αυτών των αντισωμάτων.

# ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

## 人体血清里的游离睾酮的定量测量的放射免疫分析 此测定分析用于体外诊断使用

### 检验原理

游离睾酮的放射免疫分析是一种竞争分析法。为取得抗体结合位点的固定数，放射性和非放射性抗原之间存在竞争时，该分析法遵循放射免疫分析的基本原则。附着于抗体的<sup>125</sup>I标记的睾酮类似物数量与目前尚无标记的游离睾酮浓度成反比。可通过倾析或抽取抗体涂层试管的方式来分离游离的抗原和被束缚的抗原。建立标准曲线，未知的游离睾酮值可通过曲线插值得取。

有关该测定的总结和解释请参考“附录”

### 警告和注意事项

总论：

- 用于体外诊断。
- 每瓶的校正液和对照液应儘快打开以免过度挥发。
- 不能将不同批次的试剂盒内的试剂混合在一起。
- 不要使用任何超过其标签上有效期的组份。
- 每次测定分析时都要建立标准曲线。
- 建议做两次测定。
- 使用之前混合校准品和质控品时，应采用倒转或轻晃小瓶的方式，不得使用涡旋振荡器进行混合。

### 放射性安全的基本规则

对放射性物质的购买、拥有、使用和转移要依照使用国家的规定。辐射安全基本规则应提供足够的保障：

- 当有放射性物质存在时，不能吃、喝、吸烟和使用化妆品。
- 不得通过嘴巴移液。
- 穿戴手套和实验室工作服，避免以任何方式接触放射性物质。
- 应在远离走廊及人来人往区域的适当位置处理放射性物质。
- 放射性物质应使用所提供容器储存在指定区域。
- 放射性产品的接收和储存记录应随时更新。
- 有可能受到污染的实验室设备及玻璃器皿应加以分开，避免造成不同放射性同位素间的交叉污染。
- 所有放射性污染或放射性物质遗失案例均应按照既定程序来处理。
- 放射性废弃物应遵照使用地所在国家/地区的既定法规进行处置。

### 叠氮化钠

有些试剂中含有作为防腐剂的叠氮化钠。叠氮化钠可与铅、铜管反应产生极具爆炸性的金属叠氮化物。对试剂的清除处理要使用大量的水冲洗，防止叠氮化物堆积。[2]

### 人源材料

按所描述的步骤进行操作，可使日常处理病人样本和血制品中所带来的风险降到最低。然而，无论这些产品的来源、处理方式或先前获得的证明，使用这些具有潜在传染性的物品均须按统一的注意事项和完善的临床实验室操作规范来进行。应使用合适的消毒剂来消除污染。遵循当地的操作规章和导则来保存并处理这些物品以及盛放这些物品的容器。

### GHS 危险等级分类

未被归为危险品

**SDS** 化学品安全技术说明书见 [techdocs.beckmancoulter.com](http://techdocs.beckmancoulter.com)

### 样本采集、处理、存放和稀释

- 血清是推荐的试样类型。
- 在进行离心操作前需让血清样本完全凝结。
- 如果对血清和血浆试样的测定会是在24小时内完成，就应在2-8°C温度范围内将它们进行贮存。如要长期贮存，应在<-20°C的温度条件下将它们冷冻贮存 [3]。为了避免反复冻融，建议准备几份等份试样。样品的融化必须在室温下进行。
- 冷冻的试样在使用前，应通过轻轻打旋或内翻来彻底解冻和混合。
- 对试样读数超出最高校准试样浓度的试样，应进行稀释，稀释能改变游离睾酮的比例。

### 提供的材料

该试剂盒内所有未开封试剂，如果是在2-8°C温度范围贮存，在试剂盒标签上的有效期限到期之前，其性能都是稳定的。试剂盒内小瓶上的有效期仅适用于制造商在装配试剂盒前对原料的长期储存，用户请不要采纳。

有关开瓶试剂的储存条件，请参阅相应段落。

**游离睾酮抗体涂层的试管：2支，每支50毫升（备用）**

塑料管，其管内壁上附固有免疫球蛋白。

**<sup>125</sup>I标记的睾酮类似物示踪剂（黄色）：1小瓶，每瓶22毫升（备用）**

该试剂瓶子在生产的时候，在其缓存区就存有185千贝克（<5微居里）<sup>125</sup>I标记的睾酮类似物，且内含蛋白质（牛血清白蛋白）、叠氮化钠（<0.1%）和一种染料。

**校准试样：标注0的瓶子1个，每瓶1.0毫升；标注1-7的瓶子7个，每瓶0.5毫升（备用）**

该校准瓶装有0到大概100皮克/毫升（0到大概346.7皮摩尔/升）的游离睾酮，且内含人体血清和叠氮化钠（<0.1%）。每个瓶子标签上都标明其精确浓度。一旦开封，将它贮存在2-8°C温度范围内达3个星期，或贮存在<-20°C的温度范围内直到试剂盒的有效期限到期。校准值使用一种内部标准来确立。

**控制试样：标注1和2的瓶子2瓶，每瓶0.5毫升（备用）**

该瓶装有游离睾酮，且内含人体血清和叠氮化钠（<0.1%）。期望值符合试剂盒里的补充说明上注明的浓度范围。一旦开封，将它贮存在2-8°C温度范围内达3个星期，或贮存在<-20°C的温度范围内直到试剂盒的有效期限到期。

### 所需但未提供的材料

除了标准的实验室设备外，以下物品是必须的：

- 12 x 75毫米的塑料或玻璃试管
- 12x75mm试管用的试管架。
- 精密的微量吸管（50微升）。
- 半自动吸管（200微升，3.0毫升）。
- 去离子水
- 涡旋混合器
- 温控水浴槽，37°C ± 2°C
- 一个用于倾析的海绵架或类似设备。
- 吸水性材料，用于吸干小管上的液体。
- 伽马计数器（为碘<sup>125</sup>专门设置）。

### 方法

#### 试剂的制备

在使用前让所有的试剂恢复到室温并轻轻地反复颠倒将它们充分混匀。

#### 测定程序

标准品，质控品和病人样品都应该做两组再取平均值

第一步： 添加	第二步： 培育与洗涤	第三步： 洗涤与计算
向抗体涂覆的试管底部先后加入  50微升的校准试样、控制试样或测定试样，立即加入，200微升的示踪剂。 涡旋混合。	在37 ± 2°C的水浴槽里密封培育60分钟  通过海绵架内翻，抽取或倾注试管，（除了“每分钟总计数”试管），倒入放射性废物容器内。 运用吸收剂大力冲洗试管，便于导液彻底。  向所有试管内加入3.0毫升的去离子水。	通过海绵架内翻，抽取或倾注试管，（除了“每分钟总计数”试管），倒入放射性废物容器内。 运用吸收剂大力冲洗试管，便于导液彻底。 吸收剂排除时间最少要2分钟。吸干试管边沿上的滴液。 小心地吸干管口的液体 测定每分钟计数和每分钟总计数，持续1分钟

\*将200微升示踪剂添加到2支另外的试管内，以获取每分钟总计数。

### 结果

通过插值标准曲线获取测定结果。试样中游离睾酮浓度的测定所用到的曲线分析与校准试样同时进行。

## 标准曲线

质量控制部门的测定结果是根据  $\ln$  纵轴上与  $B/T$  或  $B/B_0$  拟合的样条曲线以及  $\log$  横轴上校准品的分析物浓度 (pg/mL) 计算得出。

利用其他资料缩减的统计方法所得到的结果可能会稍微不同。

半数有效量=3.710 皮克/毫升

总放射性：每分钟计数 62502				
校准品	游离睾酮 (皮克/毫升)	cpm (n=2)	B/T (%)	B/B <sub>0</sub> (%)
0	0	28,056	44.89	100.0
1	0.23	23,889	38.22	85.15
2	0.90	18,675	29.88	66.56
3	2.80	15,016	24.03	53.52
4	9.50	10,466	16.75	37.30
5	26.00	6,682	10.69	23.82
6	50.00	4,466	7.15	15.92
7	100.0	2,989	4.78	10.66

(标准曲线示例, 不要用于直接计算)

## 试样

在标准曲线的纵轴上读取每种试样的 B/T 值或 B/B<sub>0</sub> 值, 并从横轴上读出试样的相应游离睾酮浓度值: 皮克/毫升。

要想将浓度单位皮克/毫升转换成皮摩尔/升, 只要将皮克/毫升的单位值乘以 3.47 即可。

## 预计值

各个实验室应确立自己的标准数值范围。以下数值是通过使用看似正常健康成年人的血清试样来取得的。

男性 (年龄)	n	中间值 (皮克/毫升)	最小值 (pg/mL)	最大值 (pg/mL)	第 2.5 百分位数 (pg/mL)	第 97.5 百分位数 (pg/mL)
20 - 29	30	15.40	7.54	27.79	8.68	25.09
30 - 39	30	14.94	6.77	22.36	8.85	21.40
40 - 49	30	11.48	7.37	20.47	7.56	18.64
50 及以上	30	9.05	4.52	15.05	5.72	14.21
全部	120	12.35	4.52	27.79	6.76	22.76

女	n	中间值 (皮克/毫升)	最小值 (pg/mL)	最大值 (pg/mL)	第 2.5 百分位数 (pg/mL)	第 97.5 百分位数 (pg/mL)
卵泡期	32	1.48	0.59	4.28	0.64	3.41
黄体期	32	1.44	0.59	3.31	0.60	2.95
Preovulatory peak	21	1.51	0.81	3.79	0.90	3.79
绝经后	13	1.17	0.33	1.97	0.36	1.85
避孕药	19	1.45	0.49	2.81	0.57	2.70

随机女性	n	中间值 (皮克/毫升)	最小值 (pg/mL)	最大值 (pg/mL)	第 2.5 百分位数 (pg/mL)	第 97.5 百分位数 (pg/mL)
全部	120	1.29	0.33	4.28	0.49	2.87

儿童预期值的详细信息 (按年龄和性别分类) 可以从“附录”的数据表中查到。

## 质量控制

良好的实验室操作习惯要求经常地使用质控样品以确保结果的质量。质控品和病人样品应该采用相同的方法处理。推荐使用适当的统计手段分析所得结果。

未能获得适当的质控品值可能表示操作不当、样本处理不当或者试剂已变质。如果包装受损或者得到的数据显示性能已发生改变, 请联系当地分销商, 或者发送电子邮件至 [imunochem@beckman.com](mailto:imunochem@beckman.com)。

## 性能特征

(要了解更多信息, 请看“附录”)

典型的数据结果仅作为一个例证提供给大家。各个实验室测得的性能表现可能会有所不同。

### 灵敏度

**检测限 (LoD):** 0.13 pg/mL

游离睾酮的 LoD 为 0.13 pg/mL, 依据如下条件, 该值与 CLSI 文档 EP17-A2 [4] 指南一致: 假阳性 ( $\alpha$ ) 小于 5% 和假阴性 ( $\beta$ ) 小于 5% 的比例; 使用 120 份空白和 120 份低水平样本的测量值; 以及 0.05 pg/mL 的空白检测限 (LoB)。

**定量限 (LoQ)** 0.37 pg/mL

游离睾酮的 LoQ 为 0.37 pg/mL, 测定方法是按照 CLSI 文档 EP17-A2 [4] 中的指南测定达到最大总误差标准的最低浓度。

### 特异性

免疫分析中使用的抗体对游离睾酮具有高度特异性。对多种相关分子获得低交叉反应性。

### 精确度

#### 重复性和实验室内精确度

测定的精确度与 CLSI 文档 EP05-A3 [5] 指南一致。对于重复性, 血清样本的变异系数低于或等于 13.2%。对于实验室内精确度, 血清样本的变异系数低于或等于 19.3%。

### 准确性

#### 线性度

使用血清样本证实该测定在 0.30-114.11 pg/mL 范围内呈线性 (按照 CLSI 文档 EP6-A [6] 指南测定)。

**测量范围 (从 LoQ 到最高校准品):**

0.37 pg/mL 至约 100 pg/mL

## 限制

- 如果不按照说明书的要求进行实验可能会显著地影响结果。
- 如果使用倾析法没有完全吸干试管, 将可能导致弱反应和虚假数值。
- 在解读测验结果时, 应当全面地考虑患者的临床表现, 包括他的病史, 别的项目的检测报告或其它适当的信息。
- 避免对样本或试剂反复冻融。
- 更多详情请参见技术说明书“附录”。
- 如果病人的样本中含有异嗜性抗体可能会影响实验结果。病人如果经常和动物接触, 使用免疫疗法, 以及一些利用免疫球蛋白或免疫球蛋白片段进行的诊断, 体内可能会产生抗体, 例如: HAMA, 这会影影响免疫测定。这样的抗体会导致不正确的结果。所以在处理此类病人的结果时要格外注意。

# ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

## RADIOIMMUNOLOGICZNA METODA DO ILOŚCIOWEGO OZNACZANIA WOLNEGO TESTOSTERONU W SUROWICY CZŁOWIEKA ZESTAW PRZEZNACZONY JEST DO DIAGNOSTYKI IN VITRO

### ZASADA

Zestaw radioimmunologiczny do oznaczania wolnego testosteronu jest zestawem kompetycyjnym. Niniejsza procedura jest zgodna z podstawowymi założeniami metody radioimmunologicznej, tzn. radioaktywne antygeny konkurują z nieradioaktywnymi antygenami o określoną liczbę wiązań z przeciwciałem [1]. Przy czym ilość znakowanego <sup>125</sup>I analogu testosteronu związanego z przeciwciałem jest odwrotnie proporcjonalna do stężenia obecnego w próbce nieoznakowanego wolnego testosteronu. Oddzielenie wolnych antygenów od antygenów związanych uzyskuje się poprzez dekantację lub odciążenie płynnej zawartości z pokrytych przeciwciałem próbek. Uzyskane wartości wolnego testosteronu odczytuje się poprzez interpolację ze skonstruowanej krzywej standardowej.

**Podsumowanie i Wyjaśnienia dotyczące Testu patrz APPENDIX.**

### OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

#### Uwagi ogólne:

- Do użytku diagnostycznego *in vitro*.
- Fiolki z kalibratorami i kontrolami nie powinny pozostawać otwarte przez czas dłuższy niż jest to konieczne aby uniknąć nadmiernego odparowania zawartości fiołki.
- Nie należy mieszać odczynników z różnych serii produkcyjnych.
- nie wolno używać składników po ich dacie ważności podanej na etykiecie,
- Krzywa standardowa musi być wykonana podczas każdego oznaczania.
- Zalecane jest wykonywanie oznaczeń w duplikatach.
- kalibratory i kontrole należy delikatnie wymieszać przed użyciem; nie mieszać vortexem

#### Podstawowe zasady bezpieczeństwa podczas postępowania z promieniowaniem

Podstawowe zasady bezpieczeństwa podczas postępowania z promieniowaniem Wejście w posiadanie, używanie, utylizacja i transfer materiałów radioaktywnych powinien być zgodny z prawem obowiązującym w kraju użytkownika. Przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa przy stosowaniu materiałów radioaktywnych powinno zapewnić odpowiednią ochronę:

- Nie jeść, nie pić, nie palić wyrobów tytoniowych, nie używać kosmetyków w pobliżu materiałów radioaktywnych.
- Nie pipetować ustami.
- Należy unikać wszelkich kontaktów z materiałami promieniotwórczymi, stosując rękawice i fartuch laboratoryjny.
- Wszelkie manipulacje związane z substancjami promieniotwórczymi powinny być wykonywane w wyznaczonej lokalizacji, z dala od korytarzy i innych zatłoczonych miejsc.
- Materiały promieniotwórcze powinny być przechowywane w udostępnionym pojemniku i w wyznaczonej strefie.
- Należy zapisać datę przyjęcia radioaktywnych produktów, a czas ich przechowywania powinien być zgodny z odpowiednim terminem.
- Sprzęt laboratoryjny i naczynia, które uległy kontaminacji powinny być oddzielone od pozostałych, aby nie spowodować kontaminacji krzyżowej różnymi radioizotopami
- W sytuacji zanieczyszczenia radioizotopami i/lub zgubieniu radioaktywnego materiału powinno być powzięte postępowanie zgodne z prawem obowiązującym w kraju użytkownika.
- Radioaktywne odpady powinny być przechowywane zgodnie z przepisami obowiązującymi w kraju użytkownika.

#### Azydek sodu

Niektóre odczynniki zawierają azydek sodu jako środek konserwujący. Azydeksodu wchodzi w reakcję z ołowiem, miedzią lub mosiądzem, tworząc

wybuchowe związki. W związku z tym odczynniki zawierające azydek sodu powinny być rozcieńczane dużą ilością wody przed wylaniem ich do kanalizacji [2].

#### Materiały pochodzące od człowieka

Zastosowanie opisanej procedury umożliwia rutynowe przetwarzanie próbki pochodząca (pobrana) od pacjenta i preparatów krwiopochodnych przy minimalnym ryzyku. Mimo to należy obchodzić się z nimi jak z preparatami potencjalnie zakaźnymi, zgodnie z powszechnie stosowanymi środkami ostrożności i dobrą praktyką laboratoryjną, niezależnie od pochodzenia, rodzaju badań i wcześniejszego świadectwa. Należy stosować odpowiednie środki dezynfekujące do odkażania. Materiały i ich opakowania należy przechowywać i usuwać zgodnie z miejscowymi zasadami i wytycznymi.

### KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Substancja niesklasyfikowana jako niebezpieczna

**SDS**

Karta charakterystyki jest dostępna w witrynie  
techdocs.beckmancoulter.com

### ZBIERANIE PRÓB, PRZYGOTOWYWANIE, ROZCIEŃCZANIE I PRZECHOWYWANIE

- zalecane typy prób to surowica
- Przed odwirowaniem należy odstawić próbki do wytworzenia pełnego skrzepu.
- próbki surowicy mogą być przechowywane w temp. 2-8°C, jeżeli oznaczenie zostanie przeprowadzone w ciągu 24 godzin - przy dłuższym przechowywaniu (max. do 2 miesięcy [3]) próbki należy zamrozić w temperaturze < -20°C po ich uprzednim rozdozowaniu ażeby uniknąć wielokrotnego zamrażania i rozmrażania tej samej próbki
- zamrożone próbki należy rozmrozić i następnie delikatnie wymieszać przed użyciem,
- nawet jeśli próbka pokazuje stężenie większe niż stężenie najwyższego kalibratora nie powinna być rozcieńczana; rozcieńczenie próbek spowoduje zmianę proporcji wolnego testosteronu do związanego testosteronu.

### MATERIAŁY DOSTARCZONE

Wszystkie nienaruszone odczynniki zestawu są stabilne zgodnie z ich datą ważności umieszczoną na etykiecie zestawu, pod warunkiem przechowywania ich w temperaturze 2-8°C. Daty ważności są wydrukowane tylko na etykietach fiolek z przedłużonym okresem składowania składników przez producenta. Nie należy brać ich pod uwagę.

Warunki przechowywania otwartych odczynników są podane w odpowiednich akapitach.

**Probówki opłaszczone pokryte przeciwciałem przeciw wolnemu testosteronowi: 2 x 50 probówek (gotowy do użycia)**

Plastikowe probówki z króliczą immunoglobuliną przeciw testosteronowi unieruchomioną na wewnętrznej ściance każdej probówki.

**Znacznik analogu testosteronu znakowany <sup>125</sup>I (ŻÓŁTY): jedna fiołka 22 mL, (gotowy do użycia)**

Na czas produkcji, fiołka zawiera 185 kBq (<5 µCi), analogu testosteronu znakowanego <sup>125</sup>I w buforze z białkami (BSA), azydkiem sodu (<0,1%) oraz barwnik.

**Kalibratory: jedna fiołka 1,0 mL kalibrator 0 i siedem fiolek po 0,5 mL kalibratory 1-7 (gotowy do użycia)**

Fiolki z kalibratorami zawierają od 0 do około 100 pg/mL (0 do około 346,7 pmol/L) wolnego testosteronu w ludzkiej surowicy z azydkiem sodu (< 0,1%). Dokładne stężenia są podane na etykiecie każdej fiołki. Po otwarciu przechowywać w temperaturze 2-8°C do trzech tygodni lub w temperaturze < -20 ° C do daty ważności zestawu. Wartości kalibratorów są ustalone w oparciu o wewnętrzne standardy referencyjne.

**Kontrola: 2 fiołki 0,5 mL oznaczone 1, 2 (gotowy do użycia)**

Fiolki zawierają wolny testosteron w ludzkiej surowicy z azydkiem sodu (<0,1%). Oczekiwane stężenia są podane w suplemencie dołączonym do zestawu. Po otwarciu przechowywać w temperaturze 2-8°C do trzech tygodni lub w temperaturze < -20 °C do daty ważności zestawu.

## MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZANE

Poza standardowym wyposażeniem laboratorium wymagane są następujące urządzenia:

- plastikowe lub szklane probówki (12 mm x 75 mm) do obliczeń całkowitych
- stojak na probówki (12 x 75 mm)
- Dokładna mikropipeta (50 µL).
- półautomatyczne pipety (200 µL, 3,0 mL)
- Woda dejonizowana.
- Mikser Vortex.
- łaźnia wodna (o kontrolowanej temperaturze) 37 ± 2°C
- stojak gąbkowy lub inne urządzenie do dekantacji
- materiał chłonący do osuszania probówek
- Licznik gamma do 125 J.

## PROCEDURA

### Przygotowanie odczynników

Doprowadzić wszystkie odczynniki do temperatury pokojowej a następnie dokładnie wymieszać delikatnie wstrząsając (przez odwracanie fiolki) przed użyciem.

### Procedura oznaczania

Oznaczać kalibratory, kontrole i próbki pacjentów w duplikatach.

Etap 1 Dodawanie	Etap 2 Inkubacja i Płukanie	Etap 3 Płukanie i Zliczanie
Do probówek pokrytych przeciwiwiałem dodać kolejno:	Przykryć i inkubować 60 minut w łaźni wodnej w temperaturze 37 ± 2°C.	Dekantować zawartość probówek, -poza probówkami «całkowite cpm» odwracając stojak gąbkowy tak by zawartość spłynęła do pojemniczka na odpad radioaktywny.
50 µL kalibratora, kontroli lub próbki, następnie niezwłocznie dodać 200 µL znacznika.	Dekantować zawartość probówek, -poza probówkami «całkowite cpm» odwracając stojak gąbkowy tak by zawartość spłynęła do pojemniczka na odpad radioaktywny.	Strząsnąć zdecydowanie probówki na chłonący materiał, aby ułatwić całkowite odsączenie,
Zmieszać "vortexem".	Strząsnąć zdecydowanie probówki na chłonący materiał, aby ułatwić całkowite odsączenie,	Strząsnąć zdecydowanie probówki na chłonący materiał aby ułatwić całkowite odsączenie, Odsączać na chłonący materiał przez minimum 2 minuty, Osuszyć kropelki ze ścian i brzegów probówek
	Dodać 3,0 mL zdejonizowanej wody do wszystkich probówek poza probówkami «całkowite cpm».	Zliczać związane cpm (B) oraz całkowite cpm (T) przez 1 min.

\*Dodać 200 µL znacznika do dwóch dodatkowych probówek, aby otrzymać «całkowite cpm».

## WYNIKI

Wyniki należy odczytać z krzywej standardowej. Krzywa ta służy do oznaczania stężenia wolnego testosteronu w próbkach, mierzonego w tym samym czasie co kalibratory.

### Krzywa standardowa

Wyniki w dziale kontroli jakości obliczono przy użyciu krzywej *składanej* dopasowania z B/T lub B/B<sub>0</sub> na liniowej osi pionowej i stężeniem analitu w kalibratorach na logarytmicznej osi poziomej (pg/mL).

Zastosowanie innych metod do opracowania danych może dać nieco inne wyniki.

ED<sub>50</sub> = 3,710 pg/mL

Aktywność całkowita: 62 502 cpm				
Kalibratory	Wolny testosteron (pg/mL)	cpm (n=2)	B/T (%)	B/B <sub>0</sub> (%)
0	0	28 056	44,89	100,0
1	0,23	23 889	38,22	85,15
2	0,90	18 675	29,88	66,56
3	2,80	15 016	24,03	53,52
4	9,50	10 466	16,75	37,30
5	26,00	6682	10,69	23,82
6	50,00	4466	7,15	15,92
7	100,0	2989	4,78	10,66

(Przykładowe wartości do krzywej wzorcowej, nie do zastosowania)

### Próbki

Dla każdej próbki odnajdź B/T albo B/B<sub>0</sub> na osi pionowej i odczytaj odpowiadające tej wartości stężenie wolnego testosteronu w pg/mL, na osi poziomej.

Aby przeliczyć pg/mL na pmol/L pomnóż wynik przez 3.47.

## OCZEKIWANE WARTOŚCI

Każde laboratorium powinno ustalić własne wartości normalne. Poniższe dane uzyskano z próbek surowicy od zdrowych dorosłych osób.

Mężczyźni (wiek w latach)	n	Median (pg/mL)	Min (pg/mL)	Maks. (pg/mL)	Centyl 2,5 (pg/mL)	Centyl 97,5 (pg/mL)
20 - 29	30	15,40	7,54	27,79	8,68	25,09
30 - 39	30	14,94	6,77	22,36	8,85	21,40
40 - 49	30	11,48	7,37	20,47	7,56	18,64
50 i więcej	30	9,05	4,52	15,05	5,72	14,21
Wszystkie	120	12,35	4,52	27,79	6,76	22,76

Kobiety	n	Median (pg/mL)	Min (pg/mL)	Maks. (pg/mL)	Centyl 2,5 (pg/mL)	Centyl 97,5 (pg/mL)
Faza folikularna	32	1,48	0,59	4,28	0,64	3,41
Faza lutealna	32	1,44	0,59	3,31	0,60	2,95
Szczyt przedowulacyjny	21	1,51	0,81	3,79	0,90	3,79
Po menopauzie	13	1,17	0,33	1,97	0,36	1,85
Środki antykoncepcyjne	19	1,45	0,49	2,81	0,57	2,70

Losowe kobiety	n	Median (pg/mL)	Min (pg/mL)	Maks. (pg/mL)	Centyl 2,5 (pg/mL)	Centyl 97,5 (pg/mL)
Wszystkie	120	1,29	0,33	4,28	0,49	2,87

Szczegółowe informacje dotyczące oczekiwanych wartości u dzieci (wg wieku i płci) można znaleźć w dodatku z danymi "APPENDIX".

## KONTROLA JAKOŚCI

Dobrze funkcjonujące laboratorium wymaga regularnego stosowania prób kontrolnych ażeby zapewnić jakość i wiarygodność uzyskiwanych wyników. Przygotowanie próbek kontrolnych odbywa się w dokładnie taki sam sposób jak próbek od pacjentów. Zaleca się także by rezultaty ich oznaczania były dokładnie i statystycznie analizowane aby prawidłowo ocenić jakość zestawu lub prawidłowość przebiegu procedury.

Nieuzyskanie odpowiednich wartości dla kontroli może wskazywać na niedokładne manipulacje, nieprawidłowe postępowanie z próbą lub pogorszenie jakości odczynników. W przypadku pogorszenia jakości opakowania lub jeżeli uzyskane dane wykazują pewną zmianę działania, proszę skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub napisać na adres [imunochem@beckman.com](mailto:imunochem@beckman.com).

## CHARAKTERYSTYKA TESTU

(Szczegóły, patrz APPENDIX)

Reprezentatywne dane są przedstawiane tylko do celów ilustracyjnych. Uzyskiwane parametry mogą się różnić w zależności od laboratoriów.

## **Czułość**

**Granica wykrywalności (LoD):** 0,13 pg/mL

Wartość LoD estronu wynosi 0,13 pg/mL, określona zgodnie z dokumentem EP17-A2 CLSI [4] na podstawie proporcji wyników fałszywie dodatnich ( $\alpha$ ) mniej niż 5% i fałszywie ujemnych ( $\beta$ ) mniej niż 5%; wykorzystując oznaczenia 120 próbek ślepych i 120 próbek o niskim stężeniu; wartość granicy próby ślepej (LoB) wynosi 0,05 pg/mL.

**Granica oznaczalności (LoQ):** 0,37 pg/mL

Wartość LoQ dla wolnego testosteronu wynosi 0,37 pg/mL, określona zgodnie z wytycznymi w dokumencie CLSI EP17-A2 [4] jako najniższe stężenie, przy którym osiągnięto kryterium maksymalnego błędu całkowitego.

## **Specyficzność**

Przeciwciała zastosowane w oznaczeniu immunologicznym jest wysoce swoiste wobec wolnego testosteronu. Niskie reaktywności krzyżowe uzyskano wobec kilku powiązanych cząsteczek.

## **Kontrola precyzji**

### **Powtarzalność i precyzja wewnątrzlaboratoryjna**

Precyzja oznaczenia została określona zgodnie z wytycznymi w dokumencie EP05-A3 CLSI [5]. W przypadku powtarzalności, współczynniki zmienności były równe lub niższe od 13,2% dla próbek surowicy. W przypadku precyzji wewnątrzlaboratoryjnej, współczynniki zmienności były równe lub niższe od 19,3% dla próbek surowicy.

## **Kontrola dokładności**

### **Liniowość**

Wykazano, że oznaczenie jest liniowe w zakresie od 0,30 do 114,11 pg/mL przy użyciu próbek surowicy (zgodnie z wytycznymi w dokumencie CLSI EP6-A [6]).

**Zakres pomiarowy** (od LoQ do najwyższego kalibratora):

0,37 pg/mL do około 100 pg/mL

## **OGRANICZENIA**

- Niestosowanie się do instrukcji używania może znacząco wpłynąć na wyniki
- Niewystarczające osuszenie probówek po dekantacji może spowodować słabą replikację i błędne wartości.
- Wyniki powinny być interpretowane w świetle całkowitego obrazu klinicznego pacjenta, włączając historię choroby, dane z innych testów i inne stosowne informacje.
- Należy unikać wielokrotnego zamrażania i rozmrażania składników zestawu oraz próbek.
- Po więcej wiadomości zajrzyj do zestawu danych w "DODATKU".
- Przeciwciała heterofiliczne obecne w próbkach pacjenta mogą zakłócić prawidłowe oznaczenie. Pacjenci mający kontakt ze zwierzętami bądź poddani immunoterapii lub innym metodom diagnostycznym z użyciem immunoglobulin lub ich fragmentów mogą produkować przeciwciała takie jak np.: HAMA zakłócające właściwe oznaczanie zestawem i mogące być powodem błędnych wyników. Wyniki pacjentów podejrzanych o obecność podobnych przeciwciał należy poddać uważnej analizie.

# ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

## KVANTITATIVNÍ RADIOIMUNOANALYTICKÉ STANOVENÍ VOLNÉHO TESTOSTERONU V LIDSKÉM SÉRU TOTO STANOVENÍ JE URČENO PRO DIAGNOSTICKÉ POUŽITÍ IN VITRO.

### PRINCIP

Radioimunoanalytické stanovení volného testosteronu je kompetitivní stanovení. Postup je založen na principu radioimunoanalýzy, kde spolu soutěží radioaktivně značený a neznačený antigen o daný počet vazebních míst na protilátce [1]. Množství <sup>125</sup>I-značeného analogu testosteronu vázaného na protilátku je nepřímo úměrné množství neznačeného volného testosteronu přítomného ve vzorku. K separaci vázané a volné frakce z roztoku se použije dekantace nebo odsátí zkumavky pokryté specifickou protilátkou. Po změření vázané aktivity v gama-čítači se sestrojí kalibrační křivka a z ní se odečtou koncentrace volného testosteronu v neznámých vzorcích.

**Souhrn a výklad stanovení jsou uvedeny v příloze "APPENDIX".**

### VAROVÁNÍ A OPATŘENÍ

#### Obecné poznámky:

- Pro diagnostické účely *in vitro*.
- Lahvičky s kalibrátory a kontrolními vzorky by měly být otevřené co nejkratší dobu, aby nedošlo k nežádoucímu odpaření roztoku.
- Nemíchejte substance ze souprav různých šarží.
- Nepoužívejte žádnou složku po uplynutí doby expirace uvedené na jejím štítku.
- Pro každou novou sérii analýz je nutné provést novou kalibraci.
- Doporučuje se provádět stanovení v duplikátech.
- Kalibrátory a kontroly se musí před použitím promíchat převrácením, spíše než na vibračním míchadle vortex.

#### Základní pravidla radiační bezpečnosti

Tento radioaktivní materiál mohou přijímat, skladovat a používat pouze pracovníci, která splňují platné zákonné předpisy upravující podmínky pro bezpečné nakládání s otevřenými radionuklidovými zajištění. Při práci s radioaktivními látkami dodržujte následující pravidla:

- V laboratořích určených k práci s radioaktivními látkami je zakázáno jíst, pít, kouřit, líčit se a pod.
- Nepipetujte ústy.
- Při práci s radioaktivními materiály zamezte kontaktu s nimi použitím rukavic a laboratorního pláště.
- Veškerá manipulace s radioaktivními látkami musí probíhat v příslušných prostorách oddělených od chodeb a jiných frekventovaných míst.
- Radioaktivní materiály musí být skladovány v dodané nádobě a v prostorách k tomu určených.
- Obalový materiál, který není kontaminován, je možno odložit do běžného odpadu pouze po odstranění varovných nápisů a značek.
- Povrch pracovních stolů, který by mohl být kontaminován, je třeba pravidelně kontrolovat. Všechno laboratorní sklo, které bylo použito pro práci s radioaktivními látkami, musí být řádně dekontaminováno a proměřeno před dalším použitím.
- V případě kontaminace nebo úniku radioaktivního materiálu postupujte podle stanovených předpisů.
- Radioaktivní odpad likvidujte v souladu s platnými zákony a předpisy.

#### Azid sodný

Některé substance jsou konzervovány azidem sodným. Azid sodný může reagovat s olovem, mědí nebo mosazí za vzniku příslušných výbušných azidů. Proto likvidované reagentie splachujte velkým množstvím vody [2].

#### Materiál lidského původu

Pacientské vzorky a materiály pocházející z krve lze popsaným postupem rutinně zpracovávat s minimálním rizikem. S těmito materiály však zacházejte jako s potenciálně infekčními podle všeobecných bezpečnostních opatření a zásad správné klinické laboratorní praxe bez ohledu na jejich původ, úpravu nebo předchozí certifikaci. K dekontaminaci použijte vhodný

desinfekční prostředek. Tyto materiály a jejich obaly skladujte a likvidujte v souladu s místními předpisy a směrnicemi.

### KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Neení klasifikované jako nebezpečné



Bezpečnostní list je k dispozici na adrese [techdocs.beckmancoulter.com](mailto:techdocs.beckmancoulter.com)

### SBĚR A PŘÍPRAVA, SKLADOVÁNÍ A ŘEDĚNÍ VZORKŮ

- Doporučeným typem vzorku je sérum.
- Vzorky séra nechejte před odstředěním náležitě srazit.
- Vzorky séra lze skladovat při 2-8 °C, jestliže bude stanovení provedeno do 24 hodin. Při delším skladování – nejdéle 2 měsíce [3] – je nutno vzorky zamrazit při < -20 °C, nejlépe v alikvotech, aby se předešlo opakovanému rozmrazování a zmrazování. Rozmrazování provádějte při laboratorní teplotě.
- Rozmražené vzorky před pipetací řádně promíchejte převrácením.
- Pokud obsahují vzorky vyšší koncentraci než je koncentrace nejvyššího kalibrátoru, je třeba je takto vydat. **NENÍ MOŽNÉ VZORKY ŘEDIT**, protože ředěním změníte poměr volného a vázaného testosteronu.

### POSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Všechny reagentie v soupravě jsou stabilní do data expirace, uvedeného na štítku krabice, jestliže jsou skladovány při 2-8 °C. Data expirací uvedené na štítcích jednotlivých složek se vztahují pouze k dlouhodobému skladování u výrobce před kompletací souprav. Neberte na ně tedy, prosím, ohled.

Skladovací podmínky pro otevřené reagentie jsou uvedeny v příslušných kapitolách.

**Zkumavky potažené protilátkou proti testosteronu: 2 x 50 kusů;** připraveny k použití.

Plastové zkumavky, potažené králičím imunoglobulinem proti testosteronu na vnitřní stěně každé zkumavky.

**Radioindikátor <sup>125</sup>I-analog testosteronu (ŽLUTÝ): 1 lahvička (22 ml);** připraven k použití.

Lahvička obsahuje ke dni výroby 185 kBq (<5 µCi) <sup>125</sup>I-značeného analogu testosteronu v tlumivém roztoku s proteiny (BSA), azidem sodným (<0,1 %) a barvivem.

**Kalibrátory: 1 lahvička, 1,0 ml (označená 0) + 7 lahviček (po 0,5 ml, označených 1 – 7);** připraveny k použití.

Lahvičky obsahují od 0 do přibližně 100 pg/ml (0 do přibližně 346,7 pmol/L) volného testosteronu v lidském séru s azidem sodným (< 0,1 %). Přesné koncentrace jsou uvedeny na štítcích lahviček. Po otevření skladujte do 3 týdnů při 2-8 °C, déle pak při < -20 °C do data expirace soupravy. Kalibrátory jsou kalibrovány na interní referenční materiál.

**Kontrolní vzorky: 2 lahvičky po 0,5 ml, označené 1, 2;** připraveny k použití.

Lahvičky obsahují volný testosteron v lidském séru s azidem sodným (<0,1 %). Koncentrační rozsah očekávaných hodnot je uveden v příloze návodu. Po otevření skladujte do 3 týdnů při 2-8 °C, déle pak při < -20 °C do data expirace soupravy.

### VYŽADOVANÉ, ALE NEPOSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Kromě obvyklého laboratorního zařízení je pro analýzu potřebné následující vybavení:

- 12x75 mm plastové nebo skleněné zkumavky pro stanovení celkové aktivity,
- stojánek pro zkumavky rozměru 12 x 75 mm,
- Přesná mikropipeta (50 µl).
- poloautomatická pipeta (200 µl, 3,0 ml),
- Deionizovaná voda.
- Přístroj typu vortex pro míchání vzorků.
- vodní lázeň 37 ± 2 °C,
- Stojánek s držákem zkumavek – pro dekantaci.
- Filtrační papír pro osušení zkumavek.

- Gama-čítač, kalibrovaný na 125l.

## POSTUP

### Příprava reagensí

Vytemperujte všechny reagensie na laboratorní teplotu a řádně je promíchejte jemným převrácením.

### Schéma postupu

Kalibrátory, kontrolní vzorky a neznámé vzorky analyzujte v duplikátech.

Krok 1 Pipetace	Krok 2 Inkubace & promytí	Krok 3 Měření
Do potažených zkumavek pipetujte na dno postupně:  50 µl kalibrátoru, kontroly nebo vzorku, okamžitě přidejte 200 µl radioindikátoru.  Promíchejte.	Zakryjte a inkubujte 60 min. ve vodní lázni při $37 \pm 2$ °C.  Odsajte nebo vylijte obsah zkumavek do radioaktivního odpadu (s výjimkou 2 zkumavek pro „total“).  Oklepněte zbylé kapky na savý podklad.  Napijetujte 3,0 ml deionizované vody (s výjimkou 2 zkumavek pro „total“).	Odsajte nebo vylijte obsah zkumavek do radioaktivního odpadu (s výjimkou 2 zkumavek pro „total“).  Oklepněte zbylé kapky na savý podklad.  Nechte nejméně 2 minuty okapat na savý podklad a pečlivě otřete okraj zkumavek.  Měřte po dobu 1 min. vázanou aktivitu (B) a celkovou aktivitu (T).

\*Napijetujte po 200 µl radioindikátoru do 2 zkumavek pro zjištění celkové aktivity (T).

## VÝSLEDKY

Výsledky jsou získány proložením z kalibrační křivky. Křivka slouží k určení koncentrace volného testosteronu pouze ve vzorcích měřených současně s kalibrátory.

### Kalibrační křivka

Výsledky v sekci kontroly kvality byly vypočteny za použití aproximační křivky *spline* s parametrem *B/T* nebo *B/B<sub>0</sub>* na svislé lineární ose a koncentrací analytu v kalibrátorech na vodorovné logaritmické ose (pg/ml).

Jiné metody zpracování mohou dávat mírně rozdílné výsledky.

ED<sub>50</sub> = 3,710 pg/ml

Total cpm: 62 502 cpm				
Kalibrátory	Volný testosteron (pg/ml)	cpm (n=2)	B/T (%)	B/B <sub>0</sub> (%)
0	0	28 056	44,89	100,0
1	0,23	23 889	38,22	85,15
2	0,90	18 675	29,88	66,56
3	2,80	15 016	24,03	53,52
4	9,50	10 466	16,75	37,30
5	26,00	6 682	10,69	23,82
6	50,00	4 466	7,15	15,92
7	100,0	2 989	4,78	10,66

(Příklad typického stanovení, nepoužívejte pro výpočet.)

### Vzorky

Na vertikální ose lokalizujte pro každý vzorek hodnoty B/T nebo B/B<sub>0</sub> a na horizontální ose odečtěte odpovídající koncentrace volného testosteronu v pg/ml.

Přepočet koncentrací z pg/ml na pmol/l se provede vynásobením výsledků faktorem 3,47.

## OČEKÁVANÉ HODNOTY

Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní rozmezí referenčních hodnot. Hodnoty uvedené níže byly naměřeny ve vzorcích séra od zdravých jedinců a jsou uvedeny jako příklad.

Muži (věk v letech)	n	Medián (pg/ml)	Min. (pg/ml)	Max. (pg/ml)	Percentil 2,5 (pg/ml)	Percentil 97,5 (pg/ml)
20 - 29	30	15,40	7,54	27,79	8,68	25,09
30 - 39	30	14,94	6,77	22,36	8,85	21,40
40 - 49	30	11,48	7,37	20,47	7,56	18,64
50 a vyšší	30	9,05	4,52	15,05	5,72	14,21
Všechny	120	12,35	4,52	27,79	6,76	22,76

Ženy	n	Medián (pg/ml)	Min. (pg/ml)	Max. (pg/ml)	Percentil 2,5 (pg/ml)	Percentil 97,5 (pg/ml)
Folikulární fáze	32	1,48	0,59	4,28	0,64	3,41
Luteální fáze	32	1,44	0,59	3,31	0,60	2,95
Preovulační pik	21	1,51	0,81	3,79	0,90	3,79
Po menopauze	13	1,17	0,33	1,97	0,36	1,85
Antikoncepce	19	1,45	0,49	2,81	0,57	2,70

Náhodné ženy	n	Medián (pg/ml)	Min. (pg/ml)	Max. (pg/ml)	Percentil 2,5 (pg/ml)	Percentil 97,5 (pg/ml)
Všechny	120	1,29	0,33	4,28	0,49	2,87

Detailní informace o očekávaných hodnotách dětských vzorků (seřazených podle věku a pohlaví) jsou uvedeny v příloze "APPENDIX"

## KONTROLA KVALITY

Správná laboratorní praxe předpokládá, že se kontrolní vzorek používá v každé kalibraci, aby se zajistila kontrola kvality získaných výsledků. Kontrolní vzorky musí být zpracovány stejným způsobem jako neznámé vzorky a k vyhodnocení výsledků se mají použít vhodné statistické metody.

Jestliže kontrolní vzorky neposkytnou náležitě hodnoty, může to být známkou nepřesné manipulace, nesprávného nakládání se vzorky nebo znehodnocení reagensí. V případě závažného poškození obalu, nebo jestliže získané výsledky nejsou ve shodě s analytickými parametry stanovení, kontaktujte prosím naše odborné pracovníky. E-mail: imunochem@beckman.com

## FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

(podrobnosti jsou uvedeny v příloze "APPENDIX")

Vzorová data slouží pouze k ilustrativním účelům. Výsledky získané v jednotlivých laboratořích se mohou lišit.

### Citlivost

**Mez měřitelnosti (LoD):** 0,13 pg/ml

Mez měřitelnosti (LoD) pro volný testosteron je 0,13 pg/ml a je stanovena v souladu s pokyny uvedenými v dokumentu CLSI EP17-A2 [4], na základě podílu falešně pozitivních výsledků ( $\alpha$ ) méně než 5 % a falešně negativních výsledků ( $\beta$ ) méně než 5 %; pomocí stanovení, se 120 blanky a 120 vzorky s nízkou hladinou; a mezi prázdného vzorku (LoB) 0,05 pg/ml.

**Mez kvantitace (LoQ):** 0,37 pg/ml

LoQ volného testosteronu je 0,37 pg/ml, stanoveno v souladu s pokyny uvedenými v dokumentu CLSI EP17-A2 [4] jako nejnižší koncentrace, při níž bylo splněno kritérium maxima celkových chyb.

### Specifita

Protílátka použitá v imunochemické analýze je vysoce specifická pro volný testosteron. Proti několika příbuzným molekulám bylo dosaženo nízkých zkřížených reaktivit.

### Přesnost

#### Opakovatelnost a laboratorní přesnost

Přesnost tohoto stanovení byla určena v souladu se směrnice uvedenými v dokumentu CLSI EP05-A3 [5]. Co se týká opakovatelnosti, jsou zjištěné variační koeficienty v případě vzorků séra menší nebo rovné 13,2 %. V rámci laboratorní přesnosti jsou variační koeficienty v případě vzorků séra menší nebo rovné 19,3 %.

### Správnost

#### Linearita

Rozbor ukázal lineární průběh od 0,30 do 114,11 pg/ml s použitím vzorků séra (stanoveno v souladu s pokyny uvedenými v dokumentu CLSI EP6-A [6]).

**Rozsah měření** (od LoQ k nejvyššímu kalibrátoru):

0,37 pg/ml až přibližně 100 pg/ml



## OMEZENÍ

- Nedodržení instrukcí uvedených v tomto návodu může vést k nesprávným výsledkům.
- Nedostatečné osušení zkumavek pomocí savého materiálu po dekantaci může mít za následek nedostatečnou reprodukovatelnost a chybné hodnoty.
- Výsledky stanovení by měly být interpretovány ve světle celkového klinického obrazu pacienta včetně anamnézy, údajů z dalších testů a jiných vhodných informací.
- Vyhněte se opakovanému zmrazování a rozmrazování reagensů a vzorků.
- Podrobnosti jsou uvedeny v příloze "APPENDIX".

- U stanovení využívajících protilátky existuje možnost interference heterofilních protilátek přítomných v patientském vzorku. Pacienti, kteří byli pravidelně ve styku se zvířaty nebo podstoupili imunoterapii nebo diagnostické procedury využívající imunoglobuliny nebo fragmenty imunoglobulinů, mohou produkovat protilátky jako například HAMA (Human Anti-Mouse Antibodies - lidské protilátky proti myším proteinům), které interferují při imunologických stanoveních. Takové interferující protilátky mohou vést k chybným výsledkům. Výsledky pacientů, u nichž existuje podezření na přítomnost takovýchto protilátek, posuzujte s opatrností.
-

# ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

## KVANTITATÍVNE RÁDIOIMUNOANALYTICKÉ STANOVENIE VOĽNÉHO TESTOSTERÓNU V ĽUDSKOM SÉRE TOTO STANOVENIE JE URČENÉ PRE DIAGNOSTICKÉ POUŽITIE IN VITRO.

### PRINCÍP

Rádioimunoanalytické stanovenie voľného testosterónu je kompetitívne stanovenie. Postup je založený na princípe rádioimunoanalýzy, kde spolu súťažia rádioaktívne značený a neznačený antigén o daný počet väzbových miest na protilátke [1]. Množstvo <sup>125</sup>I-značeného analógu testosterónu viazaného na protilátku je nepriamo úmerné množstvu neznačeného voľného testosterónu prítomného vo vzorke. K separácii viazanej a voľnej frakcie z roztoku sa používajú dakantácia alebo odsatie skúmavky potiahnuté špecifickou protilátkou. Po zmeraní viazanej aktivity v gama-čítači sa zostrojí kalibračná krivka a z nej sa odpočítajú koncentrácie voľného testosterónu v neznámych vzorkách.

**Súhrn a výklad stanovení sú uvedené v prílohe "APPENDIX".**

### VÝSTRAHA A OPATRENIA

#### Obecné poznámky:

- Na *in vitro* diagnostické použitie.
- Fľaštičky s kalibrátormi a kontrolnými vzorkami môžu byť otvorené čo najkratšiu dobu, aby nedošlo k nežiaducej odpareni roztoku.
- Nemiešajte substancie zo súprav rôznych šarží.
- Nepoužívajte žiadnu zložku po uplynutí expirácie uvedenej na jej štítku.
- Ku každému radu stanovení je treba vždy stanoviť novú kalibračnú závislosť.
- Doporučuje sa robiť stanovenia v duplikátoch.
- kalibrátory a kontroly sa musia pred použitím premiešať prevracaním, skôr ako na vibračnom miešadle vortex.

#### Základné pravidlá radiačnej bezpečnosti

Tento rádioaktívny materiál môžu prijímať, skladovať a používať iba pracovníci, ktorí spĺňajú platné zákonné predpisy upravujúce podmienky pre bezpečné nakladanie s otvorenými rádionuklidovými zariadeniami. Pri práci s rádioaktívnymi látkami dodržujte nasledujúce pravidlá:

- v laboratóriách určených k práci s rádioaktívnymi látkami je zakázané jesť, piť, fajčiť, líčiť sa a pod.,
- Nepipetujte ústami.
- Používaním rukavíc a laboratórneho pláštia zabráňte kontaktu s rádioaktívnymi materiálmi.
- Všetky manipulácie s rádioaktívnymi látkami by sa mali vykonávať na vhodnom mieste mimo chodieb a iných rušných priestorov.
- Rádioaktívne materiály by sa mali skladovať v príslušnej nádobe a vo vyhradených priestoroch.
- Obalový materiál, ktorý nie je kontaminovaný, možno odložiť do bežného odpadu až po odstránení výstražných nápisov a značiek.
- Povrch pracovných stolov, ktorý by mohol byť kontaminovaný, treba pravidelne kontrolovať.
- V prípade kontaminácie alebo úniku rádioaktívneho materiálu postupujte podľa stanovených predpisov.
- Rádioaktívny odpad likvidujte v súlade s platnými zákonmi a predpismi.

#### Azid sodný

Niektoré substancie sú konzervované azidom sodným. Azid sodný môže reagovať s olovom, meďou alebo mosadzou za vzniku príslušných výbušných azidov. Preto likvidované reagenty splachujte veľkým množstvom vody [2].

#### Materiál ľudského pôvodu

Pacientove vzorky a materiály pochádzajúce z krvi možno popísaným postupom rutinne spracovávať s minimálnym rizikom. S týmito materiálmi však zachádzajte ako s potenciálne infekčnými podľa všeobecných bezpečnostných opatrení a zásad správnej klinickej laboratórnej praxe bez ohľadu na ich pôvod, úpravu alebo predchádzajúcu certifikáciu. Pre

dekontamináciu používajte vhodný dezinfekčný prostriedok. Tieto materiály a ich obaly skladujte a likvidujte v súlade s miestnymi predpismi a smernicami.

### KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Nie je klasifikované ako nebezpečné.

**SDS**

Bezpečnostný list je k dispozícii na stránkach [techdocs.beckmancoulter.com](http://techdocs.beckmancoulter.com)

### ZBER A PRÍPRAVA, SKLADOVANIE A RIEDENIE VZORIEK

- Odoberajte vzorky krvi do skúmaviek bez aditív.
- Vzorky krvi nechajte pred centrifugáciou úplne vyzrážať.
- Vzorky séra možno skladovať pri 2-8 °C, ak bude stanovenie urobené do 24 hodín. Pri dlhšom skladovaní – max. 2 mesiace [3] – je nutné vzorky zamraziť pri < -20 °C, najlepšie v alikvótoch, aby sa predišlo opakovanému rozmrazovaniu a zmrazovaniu. Rozmrazovanie robte pri laboratórnej teplote.
- Rozmrazené vzorky pred pipetáciou poriadne premiešajte prevracaním.
- Pokiaľ obsahujú vzorky vyššiu koncentráciu ako je koncentrácia najvyššieho kalibrátoru, je treba ich takto vydať. NIE JE MOŽNÉ VZORKY RIEDIŤ, pretože riedením zmeníte pomer voľného a viazaného testosterónu.

### POSKYTOVANÝ MATERIÁL

Všetky reagenty v súprave sú stabilné do dátumu expirácie, uvedeného na štítku krabice, ak sú skladované pri 2-8 °C. Dátumy expirácií uvedené na štítkoch jednotlivých zložiek sa vzťahujú iba na dlhodobé skladovanie u výrobcu pred kompletizáciou súprav. Neberte na ne, prosím, ohľad.

Skladovacie podmienky pre otvorené činidlá sú uvedené v príslušných odsekoch.

**Skúmavky potiahnuté protilátkou proti testosterónu: 2 x 50 kusov;** pripravené k použitiu.

Plastové skúmavky, potiahnuté zajačím imunoglobulínom proti testosterónu na vnútornej stene každej skúmavky.

**Rádioindikátor <sup>125</sup>I-analog testosterónu (ŽLTÝ): 1 fľaštička (22 ml);** pripravené k použitiu.

Fľaštička obsahuje ku dňu výroby 185 kBq (<5 µCi) <sup>125</sup>I-značeného analógu testosterónu v tmivom roztoku s proteínmi (BSA), azidom sodným (<0,1 %) a farbivom.

**Kalibrátory: 1 fľaštička (1,0 ml, označená 0) + 7 fľaštičiek (po 0,5 ml, označených 1 – 7);** pripravené k použitiu.

Fľaštičky obsahujú od 0 do približne 100 pg/ml (0 do približne 346,7 pmol/L) voľného testosterónu v ľudskom sére s azidom sodným (< 0,1 %). Presné koncentrácie sú uvedené na štítkoch fľaštičiek. Po otvorení skladujte do 3 týždňov pri 2-8 °C, dlhšie potom pri < -20 °C do dátumu expirácie súpravy. Kalibrátory sú kalibrované na interný referenčný materiál.

**Kontrolné vzorky: 2 fľaštičky po 0,5 ml, označené 1, 2;** pripravené k použitiu.

Fľaštičky obsahujú voľný testosterón v ľudskom sére s azidom sodným (<0,1 %). Koncentračný rozsah očakávaných hodnôt je uvedený v prílohe návodu. Po otvorení skladujte do 3 týždňov pri 2-8 °C, dlhšie potom pri < -20 °C do dátumu expirácie súpravy.

### POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ SA NEPOSKYTUJE

Okrem obvyklého laboratórneho zariadenia je pre analýzu potrebné nasledujúce vybavenie:

- 12x75 mm plastové alebo sklenené skúmavky pre stanovenie celkovej aktivity
- stojan pre skúmavky rozmeru 12 x 75 mm,
- Presná mikropipeta (50 µl).
- poloautomatická pipeta (200 µl, 3,0 ml),
- Deionizovaná voda
- Mixér Vortex
- vodnú kúpeľ 37 ± 2 °C,
- stojan s držiakom skúmaviek – pre dekantáciu,

- filtračný papier pre osušenie skúmaviek,
- Gama-merač kalibrovaný na 125l.

## POSTUP

### Príprava reagencií

Vytemperujte všetky reagenty na laboratórnu teplotu a riadne ich premiešajte jemným prevracaním.

### Schéma postupu

Kalibrátory, kontrolné vzorky a neznáme vzorky analyzujte v duplikátoch.

Krok 1 Pipetácia	Krok 2 Inkubácia & premytie	Krok 3 Meranie
Do potiahnutých skúmaviek pipetujte na dno postupne :	Zakryte a inkubujte 60 min. vo vodnom kúpeli pri $37 \pm 2$ °C.	Vylejte obsah skúmaviek do rádioaktívneho odpadu (s výnimkou 2 skúmaviek pre „total“).
50 µl kalibrátora, kontroly alebo vzorky, okamžite 200 µl rádioindikátora.*	Vylejte obsah skúmaviek do rádioaktívneho odpadu (s výnimkou 2 skúmaviek pre „total“).	Oklepte kvapky na savý podklad.
Premiešajte.	Oklepte kvapky na savý podklad.	Nechajte najmenej 2 minúty okvapkať na savý podklad a svedomito utrite okraj skúmaviek.
	Napipetujte 3,0 ml deionizovanej vody (s výnimkou 2 skúmaviek pre „total“).	Merajte po dobu 1 min. viazanú aktivitu (B) a celkovú aktivitu (T).

\*Napipetujte po 200 µl rádioindikátora do 2 skúmaviek na zistenie celkovej aktivity (T).

## VÝSLEDKY

Výsledky sú získané preložením z kalibračnej krivky. Krivka slúži k určeniu koncentrácie voľného testosterónu iba vo vzorkách meraných súčasne s kalibrátormi.

### Kalibračná krivka

Výsledky uvedené v časti o kontrole kvality boli vypočítané preložením krivky metódou *spline*. Na lineárnu vertikálnu os sa vyniesli hodnoty  $B/T$  alebo  $B/B_0$  a na logaritmickú horizontálnu os koncentrácie analytu v kalibrátoroch (pg/ml).

Iné metódy spracovania môžu dávať mierne rozdielne výsledky.

$ED_{50}$  = 3,710 pg/ml

Total cpm: 62 502 cpm				
Kalibrátory	Voľný testosterón (pg/ml)	cpm (n=2)	B/T (%)	B/B <sub>0</sub> (%)
0	0	28 056	44,89	100,0
1	0,23	23 889	38,22	85,15
2	0,90	18 675	29,88	66,56
3	2,80	15 016	24,03	53,52
4	9,50	10 466	16,75	37,30
5	26,00	6682	10,69	23,82
6	50,00	4466	7,15	15,92
7	100,0	2989	4,78	10,66

(Príklad typického stanovenia, nepoužívajte pre výpočet.)

### Vzorky

Na vertikálnej ose lokalizujte pre každú vzorku hodnoty  $B/T$  alebo  $B/B_0$  a na horizontálnej ose odčítajte odpovedajúce koncentrácie testosterónu v pg/ml.

Prepočet koncentrácií z pg/ml na pmol/l sa urobí vynásobením výsledkov faktorom 3,47.

## OČAKÁVANÉ HODNOTY

Každé laboratórium by si malo stanoviť vlastné rozmedzie referenčných hodnôt. Hodnoty uvedené nižšie boli namerané vo vzorkách séra od zdravých jedincov a sú uvedené ako príklad.

Muži (vek v rokoch)	n	Medián (pg/ml)	Min. (pg/ml)	Max. (pg/ml)	2,5. percentil (pg/ml)	97,5. percentil (pg/ml)
20 - 29	30	15,40	7,54	27,79	8,68	25,09
30 - 39	30	14,94	6,77	22,36	8,85	21,40
40 - 49	30	11,48	7,37	20,47	7,56	18,64
50 a viac	30	9,05	4,52	15,05	5,72	14,21
Všetky	120	12,35	4,52	27,79	6,76	22,76

Ženy	n	Medián (pg/ml)	Min. (pg/ml)	Max. (pg/ml)	2,5. percentil (pg/ml)	97,5. percentil (pg/ml)
Folikulárna fáza	32	1,48	0,59	4,28	0,64	3,41
Luteálna fáza	32	1,44	0,59	3,31	0,60	2,95
Preovulačný pik	21	1,51	0,81	3,79	0,90	3,79
Menopauza	13	1,17	0,33	1,97	0,36	1,85
Antikoncepčné prípravky	19	1,45	0,49	2,81	0,57	2,70

Náhodné ženy	n	Medián (pg/ml)	Min. (pg/ml)	Max. (pg/ml)	2,5. percentil (pg/ml)	97,5. percentil (pg/ml)
Všetky	120	1,29	0,33	4,28	0,49	2,87

Detailné informácie o očakávaných hodnotách detských vzoriek (zoradených podľa veku a pohlavia) sú uvedené v prílohe "APPENDIX"

## KONTROLA KVALITY

Správna laboratórna prax predpokladá, že sa kontrolná vzorka používa v každej kalibrácii, aby sa zaisťovala kontrola kvality získaných výsledkov. Kontrolné vzorky musia byť spracované rovnakým spôsobom ako neznáme vzorky a k vyhodnoteniu výsledkov sa majú použiť vhodné štatistické metódy.

Ak kontrolné vzorky neposkytnú náležité hodnoty, môže to byť známku nepresnej manipulácie, nesprávneho manipulovania so vzorkami alebo znehodnotenia reagentov. V prípade závažného poškodenia obalu, alebo ak získané výsledky nie sú v zhode s analytickými parametrami stanovenia, kontaktujte prosím našich odborných pracovníkov. E-mail: beckman.sk@beckman.com

## VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

(podrobnosti sú uvedené v prílohe "APPENDIX")

Vzorové dáta slúžia iba k informačným účelom. Výsledky získané v jednotlivých laboratóriách sa môžu líšiť.

### Citlivosť

**Medza merateľnosti (LoD):** 0,13 pg/ml

LoD pre voľný testosterón je 0,13 pg/ml, stanovená v súlade s odporúčaniami v dokumente CLSI EP17-A2 [4] na základe podielu falošne pozitívnych výsledkov ( $\alpha$ ) menej ako 5 % a falošne negatívnych výsledkov ( $\beta$ ) menej ako 5 %; s využitím stanovení so 120 prázdnyimi vzorkami a 120 vzorkami s nízkou hladinou; medza prázdnej vzorky (LoB) je 0,05 pg/ml.

**Medza kvantifikácie (LoQ):** 0,37 pg/ml

Hodnota LoQ pre voľný testosterón je 0,37 pg/ml a bola stanovená v súlade s odporúčaniami v dokumente CLSI EP17-A2 [4] ako najnižšia koncentrácia, pri ktorej je splnené kritérium maximálnej celkovej chyby.

### Špecifita

Protilátka používaná pri tejto imunoanalýze má vysokú špecifitu na voľný testosterón. Nízka krížová reaktivita bola zaznamenaná voči niekoľkým súvisiacim molekulám.

### Presnosť

#### Opakovateľnosť a presnosť v rámci laboratória

Presnosť analytického testu bola stanovená v súlade s odporúčaniami v dokumente CLSI EP05-A3 [5]. Pokiaľ ide o opakovateľnosť, pri vzorkách séra boli zistené hodnoty variačného koeficientu nižšie alebo rovné 13,2 %. Pokiaľ ide o presnosť v rámci laboratória, pri vzorkách séra boli zistené hodnoty variačného koeficientu nižšie alebo rovné 19,3 %.

### Správnosť

#### Linearita

Analytický test vykazoval lineárnosť od 0,30 do 114,11 pg/ml pri použití vzoriek séra (stanovené v súlade s odporúčaniami v dokumente CLSI EP6-A [6]).

**Rozsah merania** (od hodnoty LoQ po najvyšší kalibrátor):

0,37 pg/ml až približne 100 pg/ml

## **OBMEDZENIA**

- Nedodržanie inštrukcií uvedených v tomto návode môže viesť k nesprávnym výsledkom.
- Nedostatočné osušenie skúmaviek po dekantácii môže viesť k nepresným výsledkom.
- Výsledky stanovení by mali byť interpretované v súlade s celkovým klinickým obrazom pacienta vrátane anamnézy, údajov z ďalších testov a iných vhodných informácií.
- Vyhnite sa opakovanému zmrazovaniu a rozmrazovaniu reagensov a vzoriek.

- Podrobnosti sú uvedené v prílohe "APPENDIX".
  - U stanovení využívajúcich protilátky existuje možnosť interferencie heterofilných protilátok prítomných v pacientovej vzorke. Pacienti, ktorí boli pravidelne v styku so zvieratami alebo podstúpili imunoterapiu alebo diagnostické procedúry využívajúce imunoglobulíny alebo fragmenty imunoglobulínov, môžu produkovať protilátky ako napríklad HAMA (Human Anti-Mouse Antibodies - ľudské protilátky proti myšim proteínom), ktoré interferujú pri imunologických stanoveniach. Takéto interferujúce protilátky môžu viesť k chybným výsledkom. Výsledky pacientov, u ktorých existuje podozrenie na prítomnosť takýchto protilátok, posudzujte s opatnosťou.
-

# ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

## 사람 혈청 내 자유 테스토스테론의 정량 측정을 위한 방사면역측정법 이 분석은 체외 진단용입니다

### 원리

자유 테스토스테론의 방사면역측정법은 결합 분석입니다. 이 절차는 일정한 수의 항체 결합 부위에 대해 방사성 항원과 비방사성 항원 간에 결합하는 방사면역측정법의 기본 원칙을 따릅니다 [1]. 항체와 결합된 <sup>125</sup>I 표지 테스토스테론 아날로그의 양은 존재하는 비표지 자유 테스토스테론 농도에 반비례합니다. 자유 항원과 결합 항원의 분리는 항체 코팅 튜브를 따라내거나 흡입하여 수행합니다. 표준 곡선이 작성되고 이 곡선에서 보간을 통해 미지의 자유 테스토스테론 값을 얻습니다.

**실험에 관한 요약과 설명은 "APPENDIX(부록)을 참고하세요.**

### 경고 및 주의 사항

#### 일반적인 주의

- 체외 진단 용도.
- 표준액과 정도관리용액은 증발을 막기 위해 가능한 짧게 개봉해야 한다.
- 상이한 lot의 kit들을 서로 섞지 않는다.
- 유효기간이 지난 어떠한 구성물을 사용하지 않는다.
- 각 측정마다 새로운 표준 곡선이 필요하다.
- 2번의 반복 측정이 권장된다.
- 표준액과 정도관리용액은 사용전에 휘젓기보다는 부드럽게 저어준다.

#### 방사선 안전에 대한 기본 규칙

방사성 물질의 구입, 소유했던 양도는 사용되는 국가의 규제에 따른다. 기본 규칙에 대한 엄수는 충분한 보호를 제공한다. 방사성 물질이 있는 장소에서는 취식, 음주, 흡연과 화장을 하지 않도록 한다.

- 방사성 물질이 있는 장소에서는 취식, 음주, 흡연과 화장을 하지 않도록 한다.
- 방사성 용액을 입으로 pipetting 하지 않도록 한다.
- 장갑과 실험복을 착용하여 방사성 물질에 대한 모든 접촉을 피하여라.
- 방사성 물질은 지정된 장소 내에서 제공되는 용기에 보관되어야만 한다.
- 방사성 물질은 지정된 장소 내에서 제공되는 용기에 보관되어야만 한다.
- 모든 방사성 제품의 수령과 저장에 대한 기록은 최신정보로 갱신하여야 한다.
- 오염이 되기 쉬운 실험실 장비와 유리제품은 다른 종류의 방사성 동위원소와의 교차오염의 예방을 위해 분리 보관되어야 한다.
- 모든 경우의 방사성 오염이나 방사성 물질의 분실은 규정된 절차에 의해 해결되어야만 한다
- 방사성 폐기물은 사용되는 국가에서 규정한 규제에 따라 처리되어야만 한다.

#### 아지드화 나트륨

어떤 시약은 방부제로서 아지드화 나트륨을 포함하고 있다. 아지드화 나트륨은 납, 구리, 황동과 폭발성 오오드화 금속의 형태를 띠는 반응을 일으킬 수 있다. 시약은 많은 양의 물로 씻어내어 배관계통을 통해 처분하라 [2].

#### 사람 기원 물질

환자 검체 및 혈액에서 유도된 생성물은 설명된 절차를 사용하여 위험 수준을 최소화한 상태로 일상적인 처리가 가능합니다. 그러나 기원, 처리 또는 사전 인증에 상관없이 일반적인 주의 사항과 우수 실험실 관리 기준(GLP)을 따라 이러한 물질을 잠재적으로 전염성이 있는 물질로 취급하십시오. 오염 제거를 위한 적절한 살균제를 사용하십시오. 이러한 물질과 용기를 현지 규정 및 지침에 따라 보관하고 폐기하십시오.

### GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

**SDS**

안전보건자료는 [techdocs.beckmancoulter.com](http://techdocs.beckmancoulter.com)에서 확인할 수 있습니다

### 표본 채집, 처리, 보관 및 희석

- 검체 유형으로는 혈청이 권장됩니다.
- 원심분리 전에 혈청 검체를 완전히 응고시키십시오.
- 24시간 내에 분석을 수행할 경우, 혈청 검체를 2~8°C에서 보관할 수 있다. 장기간 보관을 위해서는 최대 2개월까지 < -20°C로 냉동시킵니다[3]. 냉동과 해동의 반복을 피하기 위해 소분량만큼 준비하는 것이 권장됩니다. 검체 해동은 실온에서 수행해야 한다.
- 검체는 실온에서 해동시킨다. 냉동된 검체는 해동시키고 사용 전에 부드럽게 혼합한다.
- 최고 교정물질의 농도보다 판독치가 높은 검체는 희석해서는 안 됩니다. 희석하면 자유 테스토스테론과 결합 테스토스테론의 비율이 바뀌게 됩니다.

### 제공되는 품목

Kit 내의 모든 시약은 2~8°C에 저장하면 Kit label에 표기된 유효기간까지 안정하다. 구성 바이알에 표기된 온도와 유효기간은 제조사를 위한 표기이니, 참고하지 마십시오.

개방된 시약에 대한 보관 조건은 적절한 단락에 명시되어 있습니다.

**자유 테스토스테론 항체 코팅 튜브: 2 x 50개 튜브(즉시 사용 가능)**

각 튜브의 내벽에 고정된 토끼 항 테스토스테론 면역글로불린이 포함된 플라ستيك 튜브.

**<sup>125</sup>I 표지 테스토스테론 아날로그 표지자(노란색): 22 mL 바이알 1개(즉시 사용 가능)**

제조 시 바이알에 185 kBq(<5 µCi)의 <sup>125</sup>I 표지 테스토스테론 아날로그가 단백질(BSA), 소디움아자이드(<0.1%) 및 염료를 함유한 완충액에 포함됩니다.

**교정물질: 0 라벨이 표시된 1.0 mL 바이알 1개와 1~7 라벨이 표시된 0.5 mL 바이알 7개(즉시 사용 가능)**

교정물질 바이알에는 0 ~ 약 100 pg/mL(0 ~ 약 346.7 pmol/L)의 자유 테스토스테론이 소디움아자이드(< 0.1%)를 함유한 사람 혈청에 포함되어 있습니다. 정확한 농도는 각 바이알 라벨에 표시되어 있습니다. 개봉한 후에는 2~8°C에서 최대 3주까지 보관하거나 < -20°C에서 키트 사용기한까지 보관할 수 있습니다. 교정물질 값은 내부 표준에 따라 확인되었습니다.

**정도관리물질: 1, 2 라벨이 표시된 0.5 mL 바이알 2개(즉시 사용 가능)**

바이알에는 소디움아자이드(<0.1%)를 함유한 사람 혈청에 자유 테스토스테론이 포함되어 있습니다. 예상 값은 키트의 부록에 표기된 농도 범위에 속합니다. 개봉한 후에는 2~8°C에서 최대 3주까지 보관하거나 < -20°C에서 키트 사용기한까지 보관할 수 있습니다.

### 필요하지만 제공되지 않는 품목

표준적인 실험실 기기에 부가하여 아래의 항목들이 요구된다.

- 총 개수를 위한 12 x 75 mm 플라스틱 또는 유리 테스트 튜브.
- 12 X 75mm 튜브용 랙
- 정밀 micropipet (50µL).
- 반자동 피펫(200 µL, 3.0 mL).
- 탈이온수
- 믹서를 교반합니다.
- 온도 제어 수조, 37°C ± 2°C.
- 스폰지 랙 또는 경사법을 위한 비슷한 장치
- 흡입용 물질
- 125I를 위한 gamma counter

### 절차

#### 시약의 준비

모든 시약들이 실온에 이르게 하고, 사용 전에 부드럽게 혼합한다.

#### 측정 순서

표준액, 정도관리용액, 검체는 2번 반복 측정한다.

1단계 첨가	2단계 배양 및 세척	3단계 세척과 계수
항체 코팅 튜브의 하단에 다음을 연속해서 첨가합니다:  50 µL의 표준액, 정도관리용액 또는 희석된 검체, 200 µL의 트레이서  교반 혼합합니다.	덮개를 가린 후 수조에서 37 ± 2°C로 60분간 배양합니다.  모든 시험관의 내용물을 스폰지랙에 뒤집어 방사성 폐기물관에 버리고 내용물을 흡입한다. (총계수율 시험관 제외)  튜브를 촉착재에 빠르게 부딪혀 완전히 배수가 되도록 돕습니다.  «total cpm» 튜브를 제외한 모든 튜브에 3.0 mL의 탈이온수를 첨가합니다.	모든 시험관의 내용물을 스폰지랙에 뒤집어 방사성 폐기물관에 버리고 내용물을 흡입한다. (총계수율 시험관 제외)  튜브를 촉착재에 빠르게 부딪혀 완전히 배수가 되도록 돕습니다.  2분 이상 촉착재로 빨아들입니다. 튜브 테두리에 묻은 작은 방울을 닦습니다.  결합 CPM(B)과 총 CPM(T)을 1분 동안 count한다.

\*추가로 2개의 튜브에 200 µL의 표지자를 첨가하여 «total cpm»을 얻습니다.

## 결과

표준 곡선에서 보간을 통해 결과를 얻습니다. 이 곡선은 교정물질과 동시에 측정되는 검체의 자유 테스토스테론 농도를 확인하는 데 사용됩니다.

### 표준곡선

정도관리 부서의 결과는 lin 수직 축에 B/T 또는 B/B<sub>0</sub>이 있고 대수 수평 축에 교정물질의 분석물질 농도(pg/mL)가 있는 스플라인 곡선 맞춤을 사용하여 산출되었습니다.

다른 데이터의 공제 방법은 다른 결과값을 보여줄 수 있다.

ED<sub>50</sub> = 3.710 pg/mL

총 활동: 62,502 cpm				
표준용액	자유 테스토스테론 (pg/mL)	cpm (n=2)	B/T (%)	B/B <sub>0</sub> (%)
0	0	28,056	44.89	100.0
1	0.23	23,889	38.22	85.15
2	0.90	18,675	29.88	66.56
3	2.80	15,016	24.03	53.52
4	9.50	10,466	16.75	37.30
5	26.00	6,682	10.69	23.82
6	50.00	4,466	7.15	15.92
7	100.0	2,989	4.78	10.66

(표준곡선의 예, 결과값에는 적용하지 마십시오.)

## 검체

각 검체별로 표준 곡선의 세로 축에서 B/T 또는 B/B<sub>0</sub> 비율을 찾은 다음 가로 축에서 해당하는 자유 테스토스테론 농도(pg/mL)를 읽습니다.

pg/mL에서 pmol/L로 농도를 변환하려면 결과에 3.47을 곱합니다.

## 기대값

각 실험실에서는 자체적인 참고 범위를 확립해야 합니다. 정상으로 보이는 건강한 성인의 혈청 검체를 사용하여 다음 값을 얻었습니다.

남성(연령)	n	중간값 (pg/mL)	최소값 (pg/mL)	최대값 (pg/mL)	2.5번째 백분위수 (pg/mL)	97.5번째 백분위수 (pg/mL)
20 - 29	30	15.40	7.54	27.79	8.68	25.09
30 - 39	30	14.94	6.77	22.36	8.85	21.40
40 - 49	30	11.48	7.37	20.47	7.56	18.64
50 이상	30	9.05	4.52	15.05	5.72	14.21
모두	120	12.35	4.52	27.79	6.76	22.76

여성	n	중간값 (pg/mL)	최소값 (pg/mL)	최대값 (pg/mL)	2.5번째 백분위수 (pg/mL)	97.5번째 백분위수 (pg/mL)
양복용자 여포기 황체	32	1.48	0.59	4.28	0.64	3.41
배란기전	32	1.44	0.59	3.31	0.60	2.95
폐경 후	21	1.51	0.81	3.79	0.90	3.79
피임약	13	1.17	0.33	1.97	0.36	1.85
	19	1.45	0.49	2.81	0.57	2.70

무작위 배정 여성	n	중간값 (pg/mL)	최소값 (pg/mL)	최대값 (pg/mL)	2.5번째 백분위수 (pg/mL)	97.5번째 백분위수 (pg/mL)
모두	120	1.29	0.33	4.28	0.49	2.87

소아의 기대 값에 대한 상세 정보(연령에 따라 분류됨)는 데이터 시트 “부록”에 나와 있습니다.

## 정도관리

좋은 실험 실습은 control 검체가 결과값의 질을 향상시켜주는데 이용되는 것을 내포한다. 검체들은 측정 검체와 같은 방법으로 처리되어야 하며 적절한 통계방법에 의해서 분석되어진 결과값이 권장된다.

올바른 정도관리물질 값을 얻지 못한 경우, 조작이 정확하지 않았거나 검체 취급이 적절치 않았거나 시약이 변질된 것이 원인일 수 있습니다. 포장에 손상되었거나 얻은 데이터가 성능 변화를 나타내는 경우 국내 대리점이나 imunochem@beckman.com으로 연락하십시오.

## 성능 특성

(더 자세한 사항은 “APPENDIX”를 참고하세요)

제시된 자료는 예시 참고용입니다. 각 실험실의 결과들은 다를 수 있습니다.

### 민감도

검출한계(LoD): 0.13 pg/mL

자유 테스토스테론의 검출한계(LoD)는 0.13 pg/mL입니다. 이 수치는 CLSI 문서 EP17-A2 [4]의 지침에 따라 120개의 블랭크와 120개의 저레벨 검체 그리고 공란한계(LoB) 0.05 pg/mL를 기준으로 한 측정값을 사용하여 5 % 미만의 위양성(α)과 5 % 미만의 위음성(β) 비율을 바탕으로 일관되게 얻었습니다.

정량한계(LoQ): 0.37pg/mL

자유 테스토스테론의 LoQ는 0.37pg/mL입니다. 이 수치는 총 최대 오류에 대한 기준이 충족되었을 때의 최저 농도로서 CLSI 문서 EP17-A2[4]의 지침에 따른 것입니다.

### 특이도

면역분석법에 사용된 항체는 자유 테스토스테론에 대해 매우 고유한 특이도를 갖습니다. 여러 관련 분자에 대해 낮은 교차 반응성을 얻었습니다.

### 정밀성

#### 반복성 및 실험실 내 정밀도

분석법의 정밀도는 CLSI 문서 EP05-A3[5]의 지침에 따라 측정되었습니다. 반복성의 경우, 혈청 검체의 변동 계수는 13.2 % 이하인 것으로 나타났습니다. 실험실 정밀도의 경우, 혈청 검체의 변동 계수는 19.3 % 이하인 것으로 나타났습니다.

### 정확성

#### 직선성

이 분석법은 혈청 검체 사용 시 0.30~114.11pg/mL 범위에서 직선성을 갖는 것으로 나타났습니다(CLSI 문서 EP6-A[6]의 지침을 따름).

#### 측정 범위(LoQ에서 최고 캘리브레이터까지):

0.37pg/mL~약 100pg/mL

## 한계

- 이 사용설명서를 준수하지 아니하면 결과에 크게 영향을 미칠 것이다.
- 튜브를 비운 후 튜브를 적절히 닦지 않으면 결과가 잘 반복되지 않거나 잘못된 결과가 나올 수 있습니다.
- 결과는 환자의 임상학적 가족력과 추가되는 실험이나 적절한 정보 등 모든 임상학적 자료를 통해 해석해야 한다.
- 키트 안에 제공되는 시약이나 검체를 반복해서 냉동하거나 해동하지 않는다.
- 더 자세한 사항은 “APPENDIX”를 참고하세요.
- 본 검사에 사용되는 항체는 환자 검체의 헤테로필릭 항체의 간섭을 받을 수 있다. 정기적으로 동물에 노출되거나 면역치료 또는 항체를 생산할 수 있는 면역글로불린(예: HAMMA)을 이용하는 진단 검사를 받은 환자는 면역검사에 간섭을 받을 수 있다

## ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

### İNSAN SERUMUNDA SERBEST TESTOSTERONUN KANTİTATİF ÖLÇÜMÜ İÇİN RADIOİMMUNOASSAY KİT BU KİT SADECE IN VITRO TANI AMAÇLI KULLANIM İÇİNDİR

#### PRENSİP

Serbest Testosteron radioimmunoassay kiti, bir yarışma deneyidir. Prosedür, radyoaktif ve radyoaktif olmayan antijenlerin belli sayıda antikor bağlanmış bölgeler için yarışması temeline dayalı, radioimmunoassay prensibine göre çalışır. Antikora bağlanmış [<sup>125</sup>I]-işaretlenmiş testosteron miktarı, işaretlenmemiş serbest testosteron miktarı ile ters orantılıdır. Serbest ve bağlanmış antijenin ayrıştırılması, antikor kaplanmış tüplerin yıkanması ve aspire edilmesi ile sağlanır. Bir kalibrasyon eğrisi oluşturulur ve bilinmeyen testosteron değerleri interpolasyon yöntemiyle eğriden tespit edilirler.

**Testin Özeti ve Açıklaması için APPENDIX-EK'e bakınız.**

#### UYARILAR VE ÖNLEMLER

##### Genel yorumlar:

- *In vitro* diagnostik kullanım içindir.
- Kalibratör ve kontrol şişeleri, buharlaşmayı önlemek amacıyla mümkün olduğunca kısa süreli açık kalmalıdır.
- Farklı lotlardan kit reaktiflerini karıştırmayınız.
- Hiçbir bileşeni etiketinde gösterilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
- Her deney için bir standard eğrisi dahil edilmelidir.
- Testi duplike olarak çalışmak önerilmektedir.
- Kalibratörler ve kontroller kullanılmadan önce elde çevirerek karıştırılmalıdır, vortekslemek önerilmez.

##### Radyasyon güvenliği için temel kurallar

Radyasyon güvenliği için temel kurallar Satınalma, sahip olma, kullanma ve radyoaktif materyalin taşınması, kullanılan ülkenin yönetmeliğine tabidir. Radyasyon güvenliğinin temel kurallarına bağlı kalınması, yeterli korumayı sağlayacaktır.

- Radyoaktif materyallerin bulunduğu ortamda yeme, içme, sigara içme, kozmetik uygulaması gibi faaliyetler gerçekleştirilmemelidir.
- Ağızla pipetleme yapılmamalıdır.
- Radyoaktif maddelerle temastan kaçınmak için eldiven ya da laboratuvar önlüğü kullanın.
- Radyoaktif maddelerle ilgili tüm işlemler, koridorlardan ve diğer işlek bölmelerden uzakta, uygun bir yerde yapılmalıdır.
- Radyoaktif maddeler, temin edilen kaplarda ve belirlenen alanlarda saklanmalıdır.
- Radyoaktif ürünlerin girişi ve saklanması ile ilgili bir kayıt güncel olarak tutulmalıdır.
- Kontaminasyona uğramış laboratuvar ekipmanları ve tüpler, farklı radyoizotopların çapraz kontaminasyonunu önlemek için ayrı tutulmalıdır.
- Her bir radyoaktif kontaminasyon veya radyoaktif malzeme kayıp vakası, belirlenen prosedürler izlenerek çözümlenmelidir.
- Radyoaktif atıklar, ülkenin kurallarına uyularak ele alınmalı ve yok edilmelidir.

##### Sodyum asit

Bazı reaktifler koruyucu olarak sodyum asit içermektedir. Sodyum asit, kurşun, bakır veya pirinç ile reaksiyona girebilir ve patlayıcı metal asitler oluşturabilir. Reaktiflerin, lavabo ve boru sisteminden bol su akıtılarak giderilmesi gerekmektedir [2].

##### İnsan kaynaklı materyal

Hasta örnekleri ve kandan elde edilen ürünler, belirtilen prosedür kullanılarak minimum risk ile rutin biçimde çalışılabilir. Fakat bu ürünleri, kaynağına, işlenmesine veya ön sertifikalarına bakılmaksızın evrensel koruma önlemlerine ve iyi klinik laboratuvar uygulamalarına uygun olarak bulaşıcı potansiyele sahip maddeler gibi kullanın. Dekontaminasyon için uygun bir dezenfektan kullanın. Bu maddeleri ve kaplarını yerel yönetmeliklere ve kılavuzlara uygun olarak saklayın ve atın.

## GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

**SDS**

Güvenlik Bilgi Formuna [techdocs.beckmancoulter.com](http://techdocs.beckmancoulter.com) adresinden ulaşılabilir

### NUMUNE TOPLANMASI, SAKLANMASI VE DİLÜSYONU

- Önerilen numune tipi serumdur.
- Santrifüj öncesinde serum örneklerinin tamamen pıhtılaşmasını bekleyin.
- Eğer test 24 saat içinde gerçekleştirilecekse, numuneler 2-8°C'de saklanabilir. Daha uzun süre saklamak için < -20°C'de dondurulması önerilir, 2 ay içinde[3]. Dondurma ve çözme işlemini tekrarlamak için numunelerin bölünerek dondurulması önerilir. Numunelerin buzu oda ısısında çözülürmelidir.
- Dondurulmuş numuneler çözüldükten sonra elde yavaşça çevrilerek iyice karıştırılmalı veya kullanmadan önce ters çevrilmelidir.
- En yüksek kalibratörün konsantrasyonundan daha yüksek okumalar dilüe edilmemelidir. Dilüsyon, serbest ve bağlı testosteron oranını değiştirir.

### SAĞLANAN MALZEMELER

2-8°C'de saklandığında bütün reaktifler, kit etiketindeki son kullanma tarihine kadar stabildir. Şişe üzerindeki son kullanma tarihleri sadece üretici tarafından içeriklerin uzun süreli saklanmaları durumunda geçerlidir.

Açılmış reaktifler için saklama koşulları ilgili paragraflarda belirtilmiştir.

**Free Testosteron Antikor-Kaplanmış Tüpler: 2 x 50 tüp** (kullanıma hazır)

İç duvarları tavşan anti-testosteron immunoglobulin kaplanmış plastik tüpler.

**<sup>125</sup>I-İşaretlenmiş Testosteron Analog Tracer (SARI): 22 mL bir şişe** (kullanıma hazır)

Üretim tarihinde şişe, sodyum asit (<%0,1) ve protein (BSA) ve boya içeren tampon içinde 185 kBq (<5 µCi) <sup>125</sup>I-İşaretlenmiş testosteron analog içerir.

**Kalibratörler: 0 etiketlenmiş 1,0 mL bir şişe, ve 1-7 etiketlenmiş 0,5 mL yedi şişe** (kullanıma hazır)

Kalibratör şişeleri, sodyum asit (<%0,1) ve insan serumu içinde 0 ile yaklaşık 100 pg/mL (0 ile yaklaşık 346,7 pmol/L) arasında serbest testosteron içerir. Tam konsantrasyon, her bir şişenin üzerindeki etikette belirtilmiştir. Açıldıktan sonra, 3 haftaya kadar 2-8°C'de veya < -20°C'de kitin son kullanma tarihine kadar saklayınız. Kalibratör değerleri bir iç standard kullanılarak belirlenmiştir.

**Kontroller: 1, 2 etiketlenmiş 0,5 mL iki şişe** (kullanıma hazır)

Şişeler, sodyum asit (<%0,1) ve insan serumu içinde serbest testosteron içerir. Beklenen değerler, kit içinde sağlanan ekte belirtilmiştir. Açıldıktan sonra, 2-8°C'de 3 haftaya kadar veya < -20°C'de kitin son kullanma tarihine kadar saklayabilirsiniz.

### GEREKLİ OLAN ANCAK SAĞLANMAYAN MALZEMELER

Standard laboratuvar ekipmanlarına ek olarak aşağıdaki malzemeler gerekmektedir:

- 12 x 75 mm Total sayımlar için plastik veya cam test tüpleri.
- 12 x 75 mm tüpler için rack.
- Hassas mikropipet (50 µL).
- Yarı-otomatik pipet (200 µL, 3,0 mL).
- Deiyonize su.
- Vorteks karıştırıcı.
- 37°C ± 2°C su banyosu.
- Tüpleri boşaltmak için süngerli rack veya benzer bir gereç.
- Tüplerin içini kurutmak için kağıt havlu
- 125 iyot için gamma counter seti.

### PROSEDÜR

#### Reaktiflerin hazırlanması

Kullanmadan önce bütün reaktifleri oda ısısına getiriniz ve yavaşça çevirerek karıştırınız.

## Test prosedürü

Kalibratörler, kontroller ve hasta numunelerini duplike olarak çalışınız.

Aşama 1 Eklèmeler	Aşama 2 İnkübasyon & Yıkama	Aşama 3 Yıkama & Sayım
Antikor kaplanmış tüplerin dibine dikkatlice ekleyiniz:	Kapatınız ve $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ su banyosunda 60 dakika inkübe ediniz.	Sünger rack'taki tüpleri, radyoaktif atık kabına ters çevirerek aynı anda boşaltınız veya aspire ediniz («total sayım/dak» tüpleri hariç).
50 µL kalibratör, kontrol veya numune, Hemen 200 µL tracer ekleyiniz.	Sünger rack'taki tüpleri, radyoaktif atık kabına ters çevirerek aynı anda boşaltınız veya aspire ediniz («total sayım/dak» tüpleri hariç).	Tüpleri kağıt havlu üzerine ters çevirerek sertçe vurarak tamamen boşaltınız.
Vorteksle karıştırınız.	Tüpleri kağıt havlu üzerine ters çevirerek sertçe vurarak tamamen boşaltınız. «Total sayım/dak» tüpleri hariç bütün tüplere 3,0 mL deiyonize su ekleyiniz.	Tahliye ters çevirerek >2 dakika. Tüplerin kenarındaki sıvı damllarını kurutunuz. Bağlı sayım/dak (B) ve total sayım/dak'yi (T) 1 dakika sayınız.

\*«Total sayım/dak»'yi elde etmek için 2 ek tüpe 200 µL tracer ekleyiniz.

## SONUÇLAR

Sonuçlar, standard eğrisinden interpolasyon yoluyla alınır. Eğri, kalibratörlerle aynı anda ölçülen numunedeki serbest testosteron konsantrasyonunu belirlemede hizmet eder.

### Standard eğrisi

Kalite kontrol bölümündeki sonuçlar, lin dikey ekseninde B/T veya B/B<sub>0</sub> ve log yatay ekseninde kalibratörlerin analit konsantrasyonu (pg/mL) ile *spline* eğri uydurma kullanılarak hesaplanmıştır.

Diğer veri indirgeme metodları biraz farklı sonuçlar verebilir.

ED<sub>50</sub> = 3,710 pg/mL

Total aktivite: 62.502 sayım/dak				
Kalibratörler	Free testosteron (pg/mL)	sayım/dak (n=2)	B/T (%)	B/B <sub>0</sub> (%)
0	0	28.056	44,89	100,0
1	0,23	23.889	38,22	85,15
2	0,90	18.675	29,88	66,56
3	2,80	15.016	24,03	53,52
4	9,50	10.466	16,75	37,30
5	26,00	6.682	10,69	23,82
6	50,00	4.466	7,15	15,92
7	100,0	2.989	4,78	10,66

(Standard eğrisi örneği, hesaplamada kullanmayınız)

### Numuneler

Her bir numune için, dikey ekseninde B/T veya B/B<sub>0</sub> yerini belirleyiniz ve yatay ekseninde ona karşılık gelen serbest testosteron konsantrasyonunu pg/mL olarak okuyunuz.

pg/mL'yi pmol/L'e dönüştürmek için sonuçları **3,47** ile çarpınız.

## BEKLENEN DEĞERLER

Her laboratuvar kendi normal değerlerini oluşturmalıdır. Bağımsız bir laboratuvarında oluşturulan normal değer çalışmalarının sonuçları aşağıda verilmiştir ve sadece referans amaçlıdır.

Erkekler (Yaş)	n	Medyan (pg/mL)	Min (pg/mL)	Maks. (pg/mL)	2,5. yüzdellik (pg/mL)	97,5. yüzdellik (pg/mL)
20 - 29	30	15,40	7,54	27,79	8,68	25,09
30 - 39	30	14,94	6,77	22,36	8,85	21,40
40 - 49	30	11,48	7,37	20,47	7,56	18,64
50 ve üzeri	30	9,05	4,52	15,05	5,72	14,21
Tümü	120	12,35	4,52	27,79	6,76	22,76

Kadınlar	n	Medyan (pg/mL)	Min (pg/mL)	Maks. (pg/mL)	2,5. yüzdellik (pg/mL)	97,5. yüzdellik (pg/mL)
Foliküler faz	32	1,48	0,59	4,28	0,64	3,41
Luteal faz	32	1,44	0,59	3,31	0,60	2,95
Ovülasyon öncesi pik	21	1,51	0,81	3,79	0,90	3,79
Postmenopozal	13	1,17	0,33	1,97	0,36	1,85
Kontraseptifler	19	1,45	0,49	2,81	0,57	2,70

Rastgele kadınlar	n	Medyan (pg/mL)	Min (pg/mL)	Maks. (pg/mL)	2,5. yüzdellik (pg/mL)	97,5. yüzdellik (pg/mL)
Tümü	120	1,29	0,33	4,28	0,49	2,87

**Çocuklar için beklenen değerler (yaş ve cinsiyete göre belirlenmiş), kullanma kılavuzunun "APPENDIX-EK" bölümünde bulunabilir.**

## KALİTE KONTROL

İyi laboratuvar uygulamaları, alınan sonuçların kalitesini garanti altına almak için kontrol numunelerinin düzenli olarak kullanılmasını gerektirir. Bu numuneler, aynen test numuneleri gibi kullanılmalıdır ve sonuçlarının uygun istatistiksel metodlarla analiz edilmesi önerilmektedir.

Kontroller için uygun değerlerin elde edilmemesi, yanlış işlemlere, hatalı örnek kullanımına veya reaktiflerin bozulduğuna işaret edebilir. Ambalajın bozulması veya elde edilen verilerin performans değişiklikleri göstermesi durumunda lütfen yerel dağıtıcınızla veya [imunochem@beckman.com](mailto:imunochem@beckman.com) adresiyle iletişime geçin.

## PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

(Daha fazla bilgi için APPENDIX-EK'e bakınız)

Temsili veriler yalnızca örnek olarak verilmiştir. Her bir laboratuvarında elde edilen performans farklılık gösterebilir.

### Duyarlılık

**Tespit Limiti (LoD):** 0,13 pg/mL

Serbest testosteronun LoD'si 0,13 pg/mL'dir; bu değer 120 kör ve 120 düşük seviyede örnekle tayinler yapılarak; 0,05 pg/mL Kör Limiti (LoB) değerinde; %5'ten az yanlış pozitif (α) ve %5'ten az yanlış negatif (β) oranlarına dayanılarak CLSI belgesi EP17-A2'deki [4] kılavuz ilkelerle tutarlı bir şekilde belirlenmiştir.

**Kantitasyon limiti (LoQ):** 0,37 pg/mL

Serbest Testosteron için LoQ değeri 0,37 pg/mL'dir; bu değer maksimum toplam hata kriterine ulaşılan noktada en düşük konsantrasyon olarak CLSI belgesi EP17-A2'deki [4] kılavuz ilkelerle tutarlı şekilde belirlenmiştir.

### Özgüllük

İmmünoanalizde kullanılan antikor yüksek düzeyde serbest testosterona özgüdür. Birkaç ilgili moleküle karşı düşük çapraz reaktiviteler elde edilmiştir.

### Kesinlik

**Tekrarlanabilirlik ve laboratuvar içi kesinlik**

Testin kesinliği, CLSI belgesi EP05-A3'deki [5] kılavuz ilkelerle tutarlı şekilde belirlenmiştir. Tekrarlanabilirlik için, varyasyon katsayıları serum örnekleri için %13,2 veya bu değer altında bulunmuştur. Laboratuvar içi kesinlik için, varyasyon katsayıları serum örnekleri için %19,3 veya bu değer altında bulunmuştur.

### Doğruluk

#### Linearite

Serum örnekleri kullanıldığında testin 0,30 ile 114,11 pg/mL arasında doğrusal olduğu gösterilmiştir (CLSI belgesi EP6-A'deki [6] kılavuz ilkeler ile tutarlı şekilde belirlenmiştir).

**Ölçüm aralığı (LoQ'dan en yüksek kalibratöre):**

0,37 pg/mL ila yaklaşık 100 pg/mL

## SINIRLAMALAR

- Bu kullanma kılavuzuna uyulmaması, sonuçları belirgin bir şekilde etkileyebilir.
- Tüplerin boşaltıldıktan sonra iyi kurutulmaması, zayıf replikasyon ve hatalı sonuçlara neden olabilir.
- Sonuçlar, klinik hikaye, ek testlerden alınan veriler ve diğer bilgilerin de yer aldığı hastanın toplam klinik durumu ışığında değerlendirilmelidir.



- Reaktifler ve numunelerin dondurulma ve çözme işleminin tekrarından kaçınınız.
- Daha fazla bilgi için ekteki "APPENDIX-EK" veri formuna bakınız.
- Antikor içeren testlerde, hasta serumu içindeki heterofil antikorlar tarafından interferans olasılığı bulunmaktadır. Hayvanlarla sürekli etkileşimde bulunan hastalar veya immunoterapi gören veya ör.HAMA gibi immunoassay ile etkileşim gösteren immunoglobulinler veya

immunoglobulin fragmanlarının kullanıldığı tedavi gören hastalarda antikor oluşturabilir. Bu gibi etkileşim gösteren antikorlar yanlış sonuçlara neden olabilir. Bu tür antikorları taşıdığından şüphelenilen hasta sonuçlarını dikkatli bir şekilde değerlendiriniz.

---

# ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

## НАБОР ДЛЯ РАДИОИММУНОЛОГИЧЕСКОГО КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВОБОДНОГО ТЕСТОСТЕРОНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ IN VITRO

### ПРИНЦИП

Радиоиммунологическое определение свободного тестостерона относится к конкурентным видам анализа. Процедура анализа соответствует основному принципу радиоиммунного анализа, в котором меченый и немеченый антигены конкурируют за ограниченное количество мест связывания [1]. Концентрация свободного тестостерона в образце обратно пропорциональна величине меченого <sup>125</sup>I-аналога тестостерона, связанного с антителами. После инкубации содержимое пробирок промывают и измеряют связанную активность <sup>125</sup>I. Концентрацию свободного тестостерона определяют методом интерполяции по калибровочной кривой.

Теория и трактовка теста приведены в разделе «APPENDIX».

### ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

#### Общие замечания:

- Для диагностических целей *in vitro*.
- Флаконы с калибраторами и контролями следует открывать непосредственно перед использованием, во избежание чрезмерного испарения.
- Не смешивать реагенты из наборов разных серий.
- Не используйте реагенты после окончания срока годности, указанного на этикетке.
- Анализ калибровочных и исследуемых проб должен проводиться одновременно.
- Анализ рекомендуется проводить в дубликатах.
- Калибраторы и контрольные образцы следует тщательно перемешать, осторожно переворачивая или покачивая флаконы. Не использовать вихревой встряхиватель.

#### Основные правила радиационной безопасности

Получение, использование и транспортировка радиоактивных материалов должны происходить в соответствии с принятыми в данной стране нормами радиационной безопасности и санитарными правилами работы с радиоактивными веществами.

- В лабораториях запрещается принимать пищу, курить, пользоваться косметикой.
- Не пипетировать ртом.
- Используйте перчатки и лабораторный халат во избежание контакта с радиоактивными материалами.
- Любое обращение с радиоактивными веществами осуществляют в подходящем местоположении, вдали от проходов и других оживленных зон.
- Радиоактивные материалы следует хранить в предоставленной упаковке в выделенной зоне.
- Необходимо регистрировать поступление и расход радиоактивных материалов.
- Лабораторное оборудование и посуду следует хранить отдельно, чтобы предотвратить их загрязнение радиоактивными изотопами.
- Любым случаем радиоактивного загрязнения или исчезновения радиоактивного материала должен рассматриваться в соответствии с законодательством.
- Утилизация радиоактивных отходов должна осуществляться в соответствии с законодательством.

#### Азид натрия

Некоторые компоненты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Вступая в реакцию со свинцом, медью и латуной, азид натрия образует взрывоопасные азиды металлов. Оработанные реагенты следует разбавлять большим количеством водопроводной воды, после чего их можно сливать в канализацию [2].

#### Материал человеческого происхождения

Пробы пациента, а также продукты, полученные из крови, могут обрабатываться в стандартных условиях при минимальном риске с использованием описанной процедуры. Тем не менее, данные продукты, независимо от их происхождения, обработки или предварительной сертификации, следует обрабатывать как потенциально инфекционные в соответствии с универсальными мерами предосторожности и правилами проведения лабораторных и клинических испытаний. Для дезинфекции используйте соответствующее дезинфицирующее средство. Храните и утилизируйте данные материалы и емкости из-под них в соответствии с действующими местными предписаниями и руководствами.

### КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Не классифицируется как опасное вещество

**SDS**

Паспорт безопасности доступен на сайте [techdocs.beckmancoulter.com](http://techdocs.beckmancoulter.com)

### ПОЛУЧЕНИЕ, ОБРАБОТКА, ХРАНЕНИЕ И РАЗВЕДЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

- Рекомендуется определение в сыворотке.
- Дождитесь полного свертывания образцов крови перед центрифугированием.
- Образцы сыворотки можно хранить при 2-8°C в течение 24 часов. Для более длительного хранения их необходимо разделить на аликвоты и заморозить при температуре <-20°C (можно хранить до 2 месяца) [3], чтобы избежать повторного замораживания-оттаивания проб.
- Замороженные образцы перед использованием следует разморозить при комнатной температуре и тщательно перемешать, осторожно переворачивая или покачивая флаконы.
- Образцы, в которых концентрация свободного тестостерона превышает концентрацию максимальной калибровочной пробы не разводить. Разведение изменяет соотношение общий/свободный тестостерон.

### ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Все реагенты стабильны при 2-8°C до окончания срока годности набора. Сроки годности, указанные на этикетках флаконов с реагентами, относятся только к их хранению в производственных условиях вплоть до момента комплектации набора и не распространяются на полученную заказчиком продукцию.

Условия хранения реагентов после их вскрытия указаны в соответствующих разделах.

#### Пробирки, покрытые моноклональными антителами к тестостерону: 2 x 50 шт (готовы к использованию)

Пластиковые пробирки, на внутренней поверхности которых иммобилизованы кроличьи антитела к тестостерону.

#### Метка, <sup>125</sup>I-аналог тестостерона (ЖЁЛТЫЙ): 1 флакон, 22 мл (готова к использованию)

На дату изготовления флакон содержит 185 кБк (<5 µCi), <sup>125</sup>I-аналога тестостерона в буфере с белком (БСА), азидом натрия (<0,1%) и красителем.

#### Калибровочные пробы: 1 флакон, 1,0 мл (0) + 7 флаконов по 0,5 мл (1-7) (готовы к использованию)

Калибровочные пробы содержат свободный тестостерон в диапазоне концентраций от 0 до приблизительно 100 пг/мл (0 до приблизительно 346,7 пмоль/л) в сыворотке крови человека с азидом натрия (< 0,1%). Точные концентрации, указаны на этикетках флаконов. После вскрытия калибровочные пробы можно хранить при 2-8°C в течение 3 недель, или при < -20°C до окончания срока годности набора. Значения калибраторов были получены с помощью внутреннего стандарта.

#### Контрольная сыворотка: 2 флакона по 0,5 мл (1, 2) (готова к использованию)

Флаконы содержат свободный тестостерон в сыворотке крови человека с азидом натрия (<0,1%). Ожидаемые диапазоны концентраций указаны на дополнительном листке-вкладыше. После вскрытия контрольные пробы можно хранить при 2-8°C в течение 3 недель, или при -20°C до окончания срока годности набора.

## НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Помимо стандартного лабораторного оборудования необходимо иметь следующее:

- пластиковые или стеклянные пробирки 12x75 мм для определения общего счета
- штативы для пробирок 12 x 75 мм.
- микропипетка (50 мкл).
- полуавтоматические пипетки (200 мкл и 3,0 мл)
- Деионизированная вода.
- Мешалка типа Вортекс (вихревой смеситель).
- водяная баня на 37°C ± 2°C
- штатив из губки или аналогичное устройство для удаления содержимого пробирок
- фильтровальная бумага для просушивания пробирок
- гамма-счетчик для измерения активности <sup>125</sup>I.

## ПРОЦЕДУРА

### Подготовка реагентов

Довести все реагенты до комнатной температуры тщательно перемешать, осторожно переворачивая или покачивая флаконы.

### Процедура анализа

Анализ следует проводить в дубликатах.

Стадия 1 Внесение компонентов	Стадия 2 Инкубация & Промывка	Стадия 3 Промывка & измерение результатов
В покрытые антителами пробирки последовательно внести:	Закрывать пробирки и инкубировать 1 час при 37± 2°C на водяной бане.	Удалить содержимое пробирок, (кроме «Т»), Одновременно перевернув губчатый штатив над емкостью для радиоактивных отходов.
50 мкл калибровочных проб, контрольных и анализируемых образцов. Затем немедленно 200 мкл метки.	Удалить содержимое пробирок, (кроме «Т»), Одновременно перевернув губчатый штатив над емкостью для радиоактивных отходов.	Резко стряхните пробирки над фильтровальной бумагой для полного удаления жидкости .
Перемешать.	Резко стряхните пробирки над фильтровальной бумагой для полного удаления жидкости .	Оставьте перевернутыми на фильтровальной бумаге на 2 минуты. Вытереть капли с края пробирок.
	Внести 3,0 мл деионизированной воды во все пробирки, кроме «Т».	Измерить связанную (В) и общую (Т) активность <sup>125</sup> I в течение 1 мин.

\*В две дополнительные пробирки внести по 200 мкл метки для оценки общей активности <sup>125</sup>I (пробы «Т»).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты рассчитывают методом интерполяции по калибровочной кривой, полученной одновременно с анализом неизвестных образцов.

### Калибровочная кривая

Результаты в отделении контроля качества рассчитаны с использованием подбора кривой «сплайн» с В/Т или В/В<sub>0</sub> по линейной вертикальной оси и концентрацией анализа калибраторов по логарифмической горизонтальной оси (пг/мл).

Другие методы обсчета могут давать несколько отличающиеся результаты.

ED<sub>50</sub> = 3,710 пг/мл

Общий счет: 62 502 имп./мин.				
Калибраторы	Свободный тестостерон (пг/мл)	Имп./ мин. (n=2)	В/Т (%)	В/В <sub>0</sub> (%)
0	0	28 056	44,89	100,0
1	0,23	23 889	38,22	85,15
2	0,90	18 675	29,88	66,56
3	2,80	15 016	24,03	53,52
4	9,50	10 466	16,75	37,30
5	26,00	6 682	10,69	23,82
6	50,00	4 466	7,15	15,92
7	100,0	2 989	4,78	10,66

(Пример типичной калибровочной кривой. Не использовать для обсчета результатов.)

### Образцы

Для каждого образца найти на вертикальной оси калибровочного графика значение В/Т или В/В<sub>0</sub>, а на горизонтальной оси соответствующую концентрацию свободного тестостерона в пг/мл.

Для перевода концентраций из пг/мл в пмоль/л нужно умножить полученный результат на 3,47.

## ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В каждой лаборатории рекомендуется установить собственные уровни свободного тестостерона, соответствующие нормальным. Концентрации свободного тестостерона, представленные в таблице, получены при исследовании образцов доноров: практически здоровых людей и приведены как ориентировочные.

Мужчины (возраст в годах)	n	Медиана (пг/мл)	Мин. (пг/мл)	Макс. (пг/мл)	2,5-я процентиль (пг/мл)	97,5-я процентиль (пг/мл)
20 - 29	30	15,40	7,54	27,79	8,68	25,09
30 - 39	30	14,94	6,77	22,36	8,85	21,40
40 - 49	30	11,48	7,37	20,47	7,56	18,64
50 и более	30	9,05	4,52	15,05	5,72	14,21
Все	120	12,35	4,52	27,79	6,76	22,76

Женщины	n	Медиана (пг/мл)	Мин. (пг/мл)	Макс. (пг/мл)	2,5-я процентиль (пг/мл)	97,5-я процентиль (пг/мл)
Фолликулярная фаза	32	1,48	0,59	4,28	0,64	3,41
Лютеиновая фаза	32	1,44	0,59	3,31	0,60	2,95
Преовуляторный пик	21	1,51	0,81	3,79	0,90	3,79
Постменопауза	13	1,17	0,33	1,97	0,36	1,85
Контрацептивы	19	1,45	0,49	2,81	0,57	2,70

Женщины из случайной выборки	n	Медиана (пг/мл)	Мин. (пг/мл)	Макс. (пг/мл)	2,5-я процентиль (пг/мл)	97,5-я процентиль (пг/мл)
Все	120	1,29	0,33	4,28	0,49	2,87

Подробная информация о ожидаемых значениях педиатрических образцов (отсортированных по возрасту и полу) приведены в разделе APPENDIX.

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

В соответствии с требованиями Good laboratory practices для контроля качества проводимых исследований следует регулярно использовать контрольные образцы, которые должны проходить те же стадии анализа, что и анализируемые пробы. Результаты контроля качества рекомендуется обрабатывать с помощью специальных статистических методов.

Отклонение результатов исследования контрольных образцов от заданных значений может свидетельствовать о технических ошибках, неправильной подготовке образца или повреждении реагентов. В случае серьезного повреждения упаковки, или в случае несоответствия полученных результатов аналитическим характеристикам обратитесь, пожалуйста, к вашему дистрибьютору или к нашим специалистам: E-mail: imunochem@beckman.com или beckman.ru@beckman.com

## ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

(более подробная информация приведена в разделе "APPENDIX")

Репрезентативные данные предоставлены исключительно для пояснений. Показатели, полученные в конкретной лаборатории, могут отличаться.

### Чувствительность

**Предел чувствительности (LoD):** 0,13 пг/мл

Предел обнаружения свободного тестостерона, 0,13 пг/мл, определен согласно рекомендациям документа EP17-A2, подготовленного CLSI [4], на основании соотношений ложноположительных результатов ( $\alpha$ ) менее 5% и ложноотрицательных результатов ( $\beta$ ) менее 5%; для определения использовано 120 холостых проб и 120 проб с низкой концентрацией; предел бланка (LoB) составил 0,05 пг/мл.

**Предел количественного определения (LoQ):** 0,37 пг/мл

Предел количественного определения (LoQ) для свободного тестостерона составляет 0,37 пг/мл, определенный согласно рекомендациям документа EP17-A2, подготовленного CLSI [4] как наименьшая концентрация, при которой был достигнут критерий для максимальной общей ошибки.

### Специфичность

Антитело, используемое в иммунохимическом анализе, является высокоспецифичным для свободного тестостерона. Низкие значения перекрестной реактивности получены для нескольких родственных молекул.

### Воспроизводимость

#### Сходимость и внутрилабораторная прецизионность

Точность исследования определяется в соответствии с рекомендациями документа EP05-A3, изданного Институтом клинических и лабораторных стандартов (CLSI) [5]. Коэффициенты вариации при оценке сходимости результатов для проб сыворотки не превышают 13,2%. Коэффициенты вариации при оценке внутрилабораторной прецизионности для проб сыворотки не превышают 19,3%.

### Точность

#### Линейность

Линейность результатов исследования сохранялась в диапазоне от 0,30 до 114,11 пг/мл с использованием проб сыворотки (определение проводили согласно рекомендациям документа EP6-A, подготовленного CLSI [6]).

**Диапазон измерений** (от предела количественного определения (LoQ) до наивысшей концентрации калибратора):

От 0,37 пг/мл до приблизительно 100 пг/мл

## ОГРАНИЧЕНИЯ

- Несоблюдение этих Инструкций по применению (IFU) может привести к искажению результатов исследования.
- Загрязнение пробирок при неаккуратном удалении содержимого может привести к плохой воспроизводимости и искажению результатов.
- Результаты определения должны быть интерпретированы в свете общей клинической картины пациента, включая анамнез, данные других тестов и подходящую иную информацию.
- Избегайте повторного замораживания и размораживания реагентов и образцов.
- Более подробная информация приведена в разделе APPENDIX.
- При выполнении анализов с использованием антител возможна интерференция гетерофильными антителами в пробе пациента. У пациентов, имеющих постоянный контакт с животными или проходивших иммунотерапию или диагностические процедуры с использованием иммуноглобулинов или их фрагментов, могут вырабатываться антитела (т.е. НАМА), которые влияют на результаты иммунного анализа. Влияние этих антител может привести к получению ошибочных результатов. Тщательно проверяйте результаты анализов пациентов с подозрением на наличие этих антител.

# ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

自由睪固酮放射免疫分析組可提供血清或血漿中自由睪固酮的定量測定，此分析法適用於體外診斷用途。

## 原理

自由睪固酮放射免疫分析組是一種『競爭』分析法，做法根據在一放射性放射免疫測定的基本原則和非放射性的抗原之間的競爭抗體一個固定數字的結和位置[1]。<sup>125</sup>I-被標記的自由睪固酮一定結和抗體對未貼<sup>125</sup>I標記的自由睪固酮的濃度是反比例的。使用一個雙重抗體系統，可分離游離和結和的抗原。在離心法標準曲線被修正之後未結合的<sup>125</sup>I標記抗體在標準曲線上利用內插法可以得到檢體內自由睪固酮濃度。

有關該測定的總結和解釋請參考“附錄”

## 警告和預防措施

一般注意事項：

- 體外診斷用。
- 每瓶的校正液和對照液應儘快打開以免過度揮發。
- 請勿混合不同批號之分析組試劑
- 不要使用任何超過其標籤上有效期的組份。
- 應建立各次分析的標準曲線
- 建議進行分析兩次
- 使用前，應輕輕倒轉或搖晃以混合標準品和質控品，不要渦旋混合。

## 放射線安全的基本原則

放線性物質的購買、擁有、利用及運送均受到使用者當地國家的法規所規範。遵循放射線安全的基本原則理應可以提供適當的保護：

- 在放射性物質的使用區域中，不可吃東西、喝飲料、抽煙或使用化妝品
- 切勿用嘴吸取液管。
- 穿戴實驗室外套和手套來避免所有放射性物質接觸。
- 應在適當的地點完成對放射性物質的所有操作，遠離走廊和其他人多的地方。
- 放射性物質應裝在所提供的容器中並存放於指定區域。
- 所有放射性產物的接收和儲存記錄應及時更新。
- 易受污染的實驗室裝置和玻璃器皿應予以隔離，以防止不同的放射性同位素之間發生交叉感染。
- 應根據已確立的程序處理放射性污染或放射性物質丟失的個案。
- 應根據所在國家確立的原則處理放射性廢棄物。

## 疊氮化鈉

有些試劑中含有疊氮化鈉作為防腐劑，疊氮化鈉可能與鉛、銅或黃銅反應形成具有爆炸性的疊氮金屬物，因此在棄置時應以大量清水沖洗水管線系統[2]。

## 人源材料

依所述程序對患者檢體和血液衍生產品進行處理可將風險降至最低。然而，無論這些產品的來源、處理或既往認證如何，均應將其當作潛在傳染性物質並按照通用預防措施和優良實驗室操作規範進行操作。使用合適的消毒劑進行消毒。按照當地法規和準則貯存和處置這些材料及其容器。

## GHS 危害分類

未歸類為危險物質

**SDS** 安全性資料表載於 [techdocs.beckmancoulter.com](http://techdocs.beckmancoulter.com)

## 檢體收集、處理、儲存、以及稀釋

- 血清是建議使用的樣品類型
- 待血清檢體完全凝結，再進行離心處理。
- 若預計在24小時內進行分析，請將血清及血漿檢體儲存於2-8°C的溫度下。若需較長期儲存，請分裝後冷凍儲存低於-20°C（最長2個月）[3]，避免重複的冷凍及解凍。檢體必需在室溫下解凍
- 冷凍樣品應徹底解凍並混合輕輕旋轉或倒置後才能使用。
- 若檢體濃度高於高標準值的校正液，建議以空白校正液進行稀釋。

## 提供的材料

若將分析組的所有試劑儲存於2-8°C的溫度下，則所有分析組之試劑在其標籤指明的有效期限內都可維持穩定。在配件小瓶標籤打印有效期限，僅適用於在組成套之前製造商長期備用。一般不適用。

已開封試劑的儲存條件將於適當的章節中加以說明。

**自由睪固酮抗血清：2x50管**（現成可用）

一管來自兔子的自由睪固酮抗血清於內管中。

**<sup>125</sup>I標記的自由睪固酮抗單株抗體(黃色瓶)；每瓶22 mL**（現成可用）

含有製造日期當時強度為185 kBq(<5μCi)的<sup>125</sup>I-免疫球蛋白，溶於含有牛血清白蛋白、疊氮化鈉(<0.1%)、以及染料的緩衝液中。

**校正液：一瓶1.0 mL.標0，七瓶0.5 mL.標1-7**（現成可用）

校正液瓶中含有0至大約100pg/mL (0至大約346.7 pmol/L)的 free testosterone，溶於人類血清及疊氮化鈉(0.1%)。的緩衝液中。確實濃度標示於各瓶標籤上。以未開封方式儲存於2-8°C。開封後於2-8°C可儲存3個星期，低於-20°C則可儲存至效期結束。這些校正液使用一個內部標準建立校正值。

**對照血清：2瓶,每瓶0.5 mL** (r現成可用)

此瓶含有溶於牛血清的free testosterone人血清、疊氮化鈉(<0.1%)，預期數值介於瓶上所註明的濃度範圍內。開封後於2-8°C可儲存3個星期，低於-20°C則可儲存至效期結束。

## 需要但未附的物品

除了一般實驗室設備以外，尚需要下列各物品

- 12 x 75 mm的塑膠或玻璃試管
- 12 x 75 mm試管用的試管架
- 精確的微量吸管(50 μL)。
- 可以精確重複分注200 μL及3.0 mL的分注器
- 去離子水。
- 振盪混合器
- 溫度控制槽，37°C ± 2°C。
- 可以傾注的海綿試管架或類似器材
- 擦乾試管的吸水性物品
- 適用125I的伽瑪計數器

## 程序

### 試劑的準備工作

讓所有試劑回到室溫,使用之前柔和的打旋或反向徹底地混合瓶內。

### 分析步驟

跑校正液、對照液和患者樣品都用雙支。

步驟一 加入	步驟二 培養和沖洗	步驟三 清洗和計數
在附著試管中，陸續加入：  50 μL的校正液、對照物或檢體，以及立即加入200μL追蹤劑  用搖盪器搖動混合	蓋好在水箱(~37°C+2)培養1小時  清洗或傾倒所有管，(除了(«總cpm»))，由與海綿架的同時反向倒入一個放射性廢物容器。  吸收劑材料用力搖並促使完全地除去髒管。  加3.0 mL離子水在所有的試管中((除了總管))	清洗或傾倒所有管，(除了(«總cpm»))，由與海綿架的同時反向倒入一個放射性廢物容器。  吸收劑材料用力搖並促使完全地除去髒管。  吸吸收劑材料用力搖並促使完全地除去髒管。排除在吸收劑材料至少2分鐘。從管外緣的小滴除髒。  計算1分鐘內的結合cpm(B)及總cpm(T)

\*在另外2管中加入200 μL追蹤劑來獲得總cpm。

## 結果

在標準曲線上進行內插法來獲得結果，標準曲線適用於與校正液同時進行檢測之檢體內的Free testosterone濃度分析。

### 標準曲線

品質管制部門的結果為使用樣條曲線擬合，其中B/T或B/B<sub>0</sub>在對數垂直軸上，標準品的分析物濃度在對數水平軸上(pg/mL)。

利用其他資料縮減的統計方法所得到的結果可能會稍微不同。

ED<sub>50</sub> = 3.710 pg/mL

總強度:: 62,502 cpm				
校正液	Free testosterone (pg/mL)	cpm (n=2)	B/T(%)	B/B <sub>0</sub> (%)
0	0	28,056	44.89	100.0
1	0.23	23,889	38.22	85.15
2	0.90	18,675	29.88	66.56
3	2.80	15,016	24.03	53.52
4	9.50	10,466	16.75	37.30
5	26.00	6,682	10.69	23.82
6	50.00	4,466	7.15	15.92
7	100.0	2,989	4.78	10.66

(標準曲線範例, 請勿用此進行計算)

### 檢體

在縱軸上定出各檢體數值B/T or B/B<sub>0</sub>, 然後在橫軸上對出free testosterone濃度(pg/mL為單位)。

濃度稀釋從pg/mL至pmol/L乘以3.47.改正樣品。

### 預期值

建議各實驗室應建立自有的正常範圍數值.在下列顯示從正常健康成人血清濃度獲得了參考值。

男性 (依年齡)	n	中間範圍 (pg/mL)	最小值 (pg/mL)	最大值 (pg/mL)	第 2.5 百分位 (pg/mL)	第 97.5 百分位 (pg/mL)
20 - 29	30	15.40	7.54	27.79	8.68	25.09
30 - 39	30	14.94	6.77	22.36	8.85	21.40
40 - 49	30	11.48	7.37	20.47	7.56	18.64
50 (含) 以上	30	9.05	4.52	15.05	5.72	14.21
全部	120	12.35	4.52	27.79	6.76	22.76

女性	n	中間範圍 (pg/mL)	最小值 (pg/mL)	最大值 (pg/mL)	第 2.5 百分位 (pg/mL)	第 97.5 百分位 (pg/mL)
濾泡期	32	1.48	0.59	4.28	0.64	3.41
黃體期	32	1.44	0.59	3.31	0.60	2.95
排卵前高峰值	21	1.51	0.81	3.79	0.90	3.79
Postmenopausal	13	1.17	0.33	1.97	0.36	1.85
避孕藥	19	1.45	0.49	2.81	0.57	2.70

隨機女性	n	中間範圍 (pg/mL)	最小值 (pg/mL)	最大值 (pg/mL)	第 2.5 百分位 (pg/mL)	第 97.5 百分位 (pg/mL)
全部	120	1.29	0.33	4.28	0.49	2.87

有关儿童预期值 (按年龄和性别分类) 的详细信息可在“附录”数据表中找到。

### 品質管制

優良實驗室規範表示定期利用對照檢體來確認所得結果的品質, 且必須利用與分析檢體完全相同的方式來進行適當的統計方法來分析所得結果。

如從質控品取得適當值失敗, 可能表示操作不準確、檢體處理錯誤或試劑變質。若發生包裝物損壞變質或所得數據顯示有性能改變的情形時, 請與您當地的經銷商聯繫或透過: imunochem@beckman.com。

### 性能特色

(有關更多細節, 請參閱附件)

代表資料僅供參考。本化驗在各個實驗室中展現的效能可能不盡相同。

#### 靈敏度

偵測極限 (LoD) : 0.13 pg/mL

游離辜固酮的LoD為0.13 pg/mL, 與CLSI文件EP17-A2 [4] 中的準則一致, 根據偽陽性(α)小於5%和偽陰性(β)小於5%的比例; 使用120個空白檢體和120個低濃度檢體測定; 且空白檢體的偵測極限(LoB)為0.05 pg/mL。

定量極限 (LoQ) : 0.37 pg/mL

游離辜固酮的LoQ為0.37 pg/mL, 與CLSI文件EP17-A2 [4] 中的準則一致, 為達到最大總錯誤標準的最低濃度。

#### 專一性

免疫分析中使用的抗體對游離辜固酮具有高度特異性。與幾種相關分子的交叉反應性低。

#### 精度

#### 重複性和實驗室內精確度

化驗的精確度與CLSI文件EP05-A3 [5] 中的準則一致。對於重複性, 血清檢體的變異係數低於或等於13.2%。對於實驗室內精確度, 血清檢體的變異係數低於或等於19.3%。

#### 準確性

#### 線性

證明該使用血清檢體的化驗在0.30 ~ 114.11 pg/mL間為線性(與CLSI文件EP6-A [6] 中的準則一致)。

測定範圍 (從LoQ到最高校正品) :

0.37 pg/mL ~ 約100 pg/mL

### 限制

- 疏忽遵守這些使用說明書(IFU)也許極大影響結果。
- 疏忽髒污管適當地傾倒也許導致錯誤的複製和假的值。
- 應該根據患者的總臨床敘述解釋結果, 包括臨床的歷史、從另外的測試數據和其他適當的信息。
- 避免對樣本或試劑反覆凍融。
- 有關更多細節, 請參閱資料表中的『附錄』。
- 為分析用試樣使用抗體, 可能性為干涉存在由heterophile 抗體為病人樣品。通常暴露於動物或接受了免疫療法或診斷過程運用免疫球蛋白或免疫球蛋白片段也許生產抗體的患者, 即HAMA, 干涉放射免疫。這樣干涉抗體也許導致錯誤結果。仔細地評估患者被懷疑有這些抗體的結果。

# ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

## RADIO IMUNO TEST ZA IN VITRO ODREĐIVANJE SLOBODNOG TESTOSTERONA U HUMANOM SERUMU Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu

### PRINCIP

Radio imuno test za određivanje slobodnog testostosterone je vrsta testa sa kompeticijom. Postupak prati osnovne principe radio imuno testa, gde je kompeticija između radioaktivnog i neradioaktivnog antigena za fiksirani broj vezujućih mesta na antitelima [1]. Količina analoga testostosterone obeleženog <sup>125</sup>I vezanog za antitelo je obrnuto proporcionalna koncentraciji neobeležene prisutnog slobodnog testostosterone. Odvajanje slobodnog i vezanog antigena se dobija odlivanjem ili aspiracijom epruveta obeleženih antitelima. Formira se standardna kriva i nepoznate koncentracije se dobijaju interpolacijom sa standardne krive.

**Zaključak i objašnjenje testa pogledati DODATAK.**

### UPOZORENJE I MERE OPREZA

#### Opšte napomene:

- Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.
- Bočice sa kalibratorima i kontrolama treba da budu otvorene što je kraće moguće da bi se izbeglo prekomerno isparavanje.
- Ne mešati reagense iz kitova različitih lotova.
- Ne koristiti ni jednu komponentu kita kome je istekao rok upotrebe naznačen na etiketi.
- Standardna kriva mora biti obuhvaćena sa svakim testom.
- Preporučeno je da se test vrši u duplikatu.
- Kalibrator i kontrole bi trebalo promešati pre upotrebe pre pažljivim okretanjem nego mešanjem na vorteksu.

#### Osnovna pravila bezbednosti od radijacije

Kupovina, posedovanje, upotreba i prenos radioaktivnog materijala je predmet regulative zemlje korisnika. Pridržavanje osnovnih pravila bezbednosti od radijacije treba da obezbedi adekvatnu zaštitu:

- Ne treba jesti, piti, pušiti ili nanositi kozmetiku u prisustvu radioaktivnih materijala.
- Ne pipetirati radioaktivni rastvor ustima.
- Izbegavati svaki kontakt sa radioaktivnim materijalom upotrebom rukavica i laboratorijskog kombinezona.
- Sva manipulacija radioaktivnim supstancama treba da se obavi u odgovarajućem prostoru, udaljenom od hodnika i drugih prometnih mesta.
- Radioaktivni materijali treba da se čuvaju u kontejnerima koji su obezbeđeni u označenom prostoru.
- Zapis o prijemu i skladištenju svih radioaktivnih proizvoda treba da se vodi ažurno.
- Laboratorijska oprema i stakleno posuđe koje je podložno kontaminaciji treba da budu razdvojeni da bi se izbegla unakrsna kontaminacija različitim radioizotopima.
- Svaki slučaj radioaktivne kontaminacije ili gubitka radioaktivnog materijala treba da bude rešen u skladu sa ustanovljenim procedurama.
- Postupanje sa radioaktivnim otpadom treba da bude u skladu sa pravilima utvrđenim u zemlji korisnika.

#### Natrijum azid

Neki reagensi sadrže natrijum azid kao konzervans. Natrijum azid može da reaguje sa olovom, bakrom ili mesingom i da formira eksplozivne metalne azide. Izbaciti reagense ispiranjem sa velikom količinom vode kroz vodovodne instalacije (2).

#### Materijali humanog porekla

Uzorci pacijenta i proizvodi dobijeni iz krvi mogu se, uz minimalni rizik, rutinski obraditi korišćenjem opisanog postupka. Međutim, ovim proizvodima treba rukovati kao sa potencijalno infektivnim supstancama, u skladu sa univerzalnim merama predostrožnosti i dobrim kliničkim laboratorijskim praksama, bez obzira na njihovo poreklo, obradu ili prethodnu sertifikaciju.

Koristite odgovarajući dezinficijens za dekontaminaciju. Ove materijale i posude u kojima se oni nalaze čuvajte i odlažite u otpad u skladu sa lokalnim propisima i smernicama.

### GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno

**SDS**

Bezbednosni list je dostupan na internet adresi [techdocs.beckmancoulter.com](http://techdocs.beckmancoulter.com)

### PRIKUPLJANJE UZORAKA, OBRADA, SKLADIŠTENJE I RAZBLAŽIVANJE

- Preporučeni tip uzorka je serum.
- Sačekajte da uzorci seruma potpuno koagulišu pre centrifugiranja.
- Uzorci seruma se mogu čuvati na 2-8°C, ako se test izvodi u okviru 24 sata. Za duže skladištenje držite ih zamrznutim na < -20°C maksimalno 2 meseca [3]. Preporučuje se alikvotiranje kako bi se izbeglo ponovljeno zamrzavanje i odmrzavanje. Odmrzavanje uzorka se treba izvoditi na sobnoj temperaturi.
- Zamrznute uzorke treba otopiti i temeljno promešati nežnim obrtanjem ili okretanjem pre upotrebe.
- Ako uzorci imaju koncentraciju veću od najvećeg kalibratora oni se ne razblažuju. Dilucija menja odnos slobodnog i vezanog testostosterone.

### ISPORUČENI MATERIJALI

Svi reagensi kita su stabilni do isteka roka označenog na etiketi kita, pod uslovom da se čuvaju na 2-8°C. Rokovi odštampani na etiketama bočica važe za dugoročno skladištenje komponenti samo od strane proizvođača, pre sastavljanja kita. Ovo ne uzimajte u obzir.

Uslovi skladištenja za otvorene reagense navedeni su u odgovarajućim odeljcima.

**Epruvete obložene antitelima na slobodan testostosterone: 2 x 50 epruveta** (spremno za upotrebu).

Plastične epruvete obložene sa unutrašnje strane zida sa anti-testostosterone imunoglobulinima.

**<sup>125</sup>I-obeleženi analog testostosterone kao obeleživač (ŽUTO): jedna 22 ml bočica** (spremna za upotrebu)

Bočica sadrži 185 kBq (<5 µCi), na dan proizvodnje, <sup>125</sup>I-obeležene analoge testostosterone u puferu sa proteinima (BSA), natrijum azidom (<0,1%) i bojom.

**Kalibrator: jedna bočica od 1,0 ml obeležena sa 0 i sedam bočica od 0,5 ml obeležene 1-7** (spremno za upotrebu)

Bočice kalibratora sadrže od 0 do približno 100 pg/ml (od 0 do približno 346,7 pmol/l) slobodnog testostosterone u humanom serumu sa natrijum azidom (< 0,1%). Tačna koncentracija je navedena na svakoj etiketi bočice. Kada se otvore, čuvati na 2-8°C do tri nedelje, ili na < -20°C do isteka roka kita. Vrednosti kalibratora su ustanovljene koristeći interni standard.

**Kontrole: dve bočice 0,5 ml obeležene 1 i 2** (spremno za upotrebu)

Bočice sadrže slobodni testostosterone u humanom serumu sa natrijum azidom (<0,1%). Očekivane koncentracije su u okviru opsega naznačenog na dodatku koji dodlaži uz pakovanje kita. Kada se otvore, čuvati na 2-8°C do tri nedelje, ili na < -20°C do isteka roka kita.

### POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU OBEZBEĐENI

Pored standardne laboratorijske opreme, potrebne su sledeće stavke:

- 12 x 75 mm plastične ili staklene test epruvete za ukupno brojanje.
- Rek za 12 x 75 mm epruvete.
- Precizne mikropipete (50 µl).
- Poluautomatske pipete (200 µl, 3 ml).
- Dejonizovana voda.
- Vrtložna mešalica.
- Vodeno kupatilo sa kontrolisanom temperaturom 37°C ± 2°C.
- Sunđerasti nosač ili slični uređaj za dekantovanje.
- Upijajući materijal za epruvete.
- Gama brojač za <sup>125</sup>I jod.

## POSTUPAK

### Priprema reagenasa

Neka svi reagensi dostignu sobnu temperaturu i promešati nežnim okretanjem pre upotrebe.

### Postupak testa

Kalibratore, kontrole i uzorke pacijenata analizirati u duplikatu.

Korak 1 Dodaci	Korak 2 Inkubacija i ispiranje	Korak 3 Ispiranje i brojanje
Na dno obloženih epruveta, sukcesivno dodavati:  50 µl kalibratora, kontrole ili uzorka. Odmah dodati 200 µl obeleživača.*  Promešati na vorteksu.	Zatvoriti epruvete i inkubirati 60 minuta u vodenom kupatilu na 37°C ± 2°C.  Dekantovati sve epruvete (izuzev epruvete za «ukupan cpm»), simultanim okretanjem sunderastog nosača u posudu za radioaktivni otpad.  Oštro otresti epruvete na materijal za apsorpciju za potpuno ceđenje.  Dodati 3,0 ml dejonizovane vode u sve epruvete (izuzev epruvete za «ukupan cpm»).	Dekantovati sve epruvete (izuzev epruvete za «ukupan cpm»), simultanim okretanjem sunderastog nosača u posudu za radioaktivni otpad.  Oštro otresti epruvete na materijal za apsorpciju za potpuno ceđenje.  Ostaviti da se ocedi na materijalu za apsorpciju minimum 2 minuta. Pokupiti kapljice sa ivice epruveta.  Brojati skok cpm (B) i ukupan cpm (T) za 1 min.

\*Dodati 200 µl obeleživača u 2 dodatne epruvete radi dobijanja «ukupnog cpm».

## REZULTATI

Rezultati su dobijeni interpolacijom sa standardne krive. Kriva služi za određivanje koncentracije slobodnog testosterona u uzorku izmerene u isto vreme kad i kalibratori.

### Standardna kriva

Rezultati u odeljenju za kontrolu kvaliteta izračunati su upotrebom *spline* (eng. spline) krive koja ima vrednosti  $B/T$  ili  $B/B_0$  na linearnoj vertikalnoj osi i koncentraciju analita kalibratora na logaritamskoj horizontalnoj osi (pg/ml).

Druge metode redukcije podataka mogu dati neznatno različite rezultate.

$ED_{50} = 3,710$  pg/ml

Ukupna aktivnost: 62.502 cpm				
Kalibratori	Slobodni testosteron (pg/ml)	cpm (n=2)	B/T (%)	B/B <sub>0</sub> (%)
0	0	28.056	44,89	100,0
1	0,23	23.889	38,22	85,15
2	0,90	18.675	29,88	66,56
3	2,80	15.016	24,03	53,52
4	9,50	10.466	16,75	37,30
5	26,00	6.682	10,69	23,82
6	50,00	4.466	7,15	15,92
7	100,0	2.989	4,78	10,66

(Primer standardne krive, ne koristiti za proračun)

### Uzorci

Za svaki uzorak locirati odnos  $B/T$  ili  $B/B_0$  na verikalnoj osi standardne krive i čitati odgovarajuću koncentraciju slobodnog testosterona u uzorku na horizontalnoj osi u pg/ml.

Za prebacivanje koncentracija iz pg/ml u pmol/l pomnožiti rezultat sa **3,47**.

## OČEKIVANE VREDNOSTI

Laboratorije trebaju da uspostave svoje vlastite referentne vrednosti. Sledeći rezultati dobijeni iz seruma očigledno zdravih normalnih osoba.

Muškarci (starost u godinama)	n	Medijana (pg/ml)	Min. (pg/ml)	Maks. (pg/ml)	2,5. percentil (pg/ml)	97,5. percentil (pg/ml)
20 - 29	30	15,40	7,54	27,79	8,68	25,09
30 - 39	30	14,94	6,77	22,36	8,85	21,40
40 - 49	30	11,48	7,37	20,47	7,56	18,64
50 i stariji	30	9,05	4,52	15,05	5,72	14,21
Svi	120	12,35	4,52	27,79	6,76	22,76

Žene	n	Medijana (pg/ml)	Min. (pg/ml)	Maks. (pg/ml)	2,5. percentil (pg/ml)	97,5. percentil (pg/ml)
Folikularna faza	32	1,48	0,59	4,28	0,64	3,41
Lutealna faza	32	1,44	0,59	3,31	0,60	2,95
Preovulatorni pik	21	1,51	0,81	3,79	0,90	3,79
Postmenoazua	13	1,17	0,33	1,97	0,36	1,85
Kontraceptivna sredstva	19	1,45	0,49	2,81	0,57	2,70

Slučajno izabrane žene	n	Medijana (pg/ml)	Min. (pg/ml)	Maks. (pg/ml)	2,5. percentil (pg/ml)	97,5. percentil (pg/ml)
Svi	120	1,29	0,33	4,28	0,49	2,87

Detaljne informacije o očekivanim vrednostima za decu (sortirane prema starosti i polu) mogu se naći u listi podataka "APPENDIX".

## KONTROLA KVALITETA

Dobra laboratorijska praksa nalaže da se kontrolni uzorci moraju redovno koristiti da bi se osigurao kvalitet dobijenih rezultata. Ti uzorci se moraju obraditi na potpuno isti način kao i testirani uzorci, i preporučeno je da se njihovi rezultati analiziraju upotrebom odgovarajućih statističkih metoda.

Ukoliko se ne dobiju odgovarajuće vrednosti za kontrolu, to može ukazivati na nepreciznu manipulaciju, neodgovarajuće rukovanje uzorcima ili propadanje reagenasa. U slučaju oštećenja pakovanja ili ako dobijeni podaci pokazuju neku promenu performansi, molimo da kontaktirate vašeg lokalnog distributera ili upotrebite sledeću e-mail adresu: [imunochem@beckman.com](mailto:imunochem@beckman.com)

## KARAKTERISTIKE PERFORMANSI

Za više detalja pogledati APPENDIX

Reprezentativni podaci su obezbeđeni u svrhu ilustracije. Performanse dobijene u pojedinačnim laboratorijama mogu da variraju.

### Osetljivost

Limit detekcije (LoD): 0,13 pg/ml

LoD za slobodni testosteron iznosi 0,13 pg/ml, a određen je u skladu sa smernicama u CLSI dokumentu EP17-A2 [4] na osnovu proporcija lažno pozitivnih vrednosti ( $\alpha$ ) manjih od 5% i lažno negativnih vrednosti ( $\beta$ ) manjih od 5%; korišćenjem određivanja, sa 120 uzoraka bez analita i 120 uzoraka niskog nivoa; i limit slepe probe (LoB) od 0,05 pg/ml.

Limit kvantifikacije (LoQ): 0,37 pg/ml

Limit kvantifikacije (LoQ) za slobodni testosteron iznosi 0,37 pg/ml, a određuje se u skladu sa smernicama u CLSI dokumentu EP17-A2 [4] kao najniža koncentracija pri kojoj je ispunjen kriterijum za maksimalnu ukupnu grešku.

### Specifičnost

Antitelo koje se koristi u imunotestu je veoma specifično za slobodni testosteron. Niske unakrsne reaktivnosti dobijene su u odnosu na nekoliko povezanih molekula.

### Preciznost

Ponovljivost i preciznost u laboratoriji

Preciznost testa je određena u skladu sa smernicama u CLSI dokumentu EP05-A3 [5]. Za ponovljivost, utvrđene vrednosti koeficijenta varijacije bile su manje od ili jednake 13,2% za uzorke seruma. Za preciznost u laboratoriji, utvrđene vrednosti koeficijenta varijacije bile su manje od ili jednake 19,3% za uzorke seruma.

### Tačnost

#### Linearnost

Test je pokazao linearnost od 0,30 do 114,11 pg/ml pri korišćenju uzoraka seruma (određeno u skladu sa smernicama u CLSI dokumentu EP6-A [6]).

Merni opseg (od LoQ do najvišeg kalibratora):

0,37 pg/ml do približno 100 pg/ml



## OGRANIČENJA

- Ne pridržavanje instrukcija u ovom uputstvu pakovanja može značajno da utiče na rezultate.
- Nepravilno isušivanje epruveta nakon dekantovanja može dovesti do loše replikacije i lažnih rezultata.
- Rezultate treba interpretirati u skladu sa celokupnom kliničkom slikom pacijenta, uključujući i kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i drugim odgovarajućim informacijama.
- Izbegavati ponovna zamrzavanja i odmrzavanja reagenasa i uzoraka.

- Za više detalja, videti "DODATAK".
  - Postoji mogućnost mešanja od strane heterofilnih antitela u uzorku pacijenta. Pacijenti koji su bili redovno izloženi životinjama ili su primili imunoterapiju ili dijagnostičke procedure koje koriste imunoglobuline ili imunoglobulinske fragmente mogu proizvesti antitela, npr. HAMA, koji utiču na imunotestove. Takva ometajuća antitela mogu uzrokovati pogrešne rezultate. Pažljivo procenite rezultate pacijenata za koje se sumnja da imaju ova antitela.
-

# ACTIVE® Free Testosterone RIA

**REF** DSL4900

## RADIOIMUNOENSAIO PARA A MEDIÇÃO QUANTITATIVA DE TESTOSTERONA LIVRE NO SORO HUMANO ESTE ENSAIO É DESTINADO PARA USO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO

### PRINCÍPIO

O radioimunoensaio de testosterona livre é um ensaio competitivo. O procedimento segue o princípio básico de radioimunoensaio, onde existe competição entre um antígeno radioativo e um não radioativo por um número fixo de locais de ligação ao anticorpo [1]. A quantidade de análogo de testosterona marcada com [<sup>125</sup>I] e ligada ao anticorpo é inversamente proporcional à concentração de testosterona livre não marcada presente. A separação do antígeno livre do ligado é obtida por decantação ou aspiração dos tubos revestidos com anticorpos. É construída uma curva padrão, e os valores de testosterona livre desconhecidos são obtidos a partir da curva por interpolação.

Consulte o sumário e a explicação do teste no ANEXO.

### AVISOS E PRECAUÇÕES

#### Observações gerais:

- Para uso em diagnóstico *in vitro*.
- Os frascos com calibradores e controles devem permanecer abertos o menor tempo possível para evitar evaporação excessiva.
- Não misture os reagentes de kits de lotes diferentes.
- Não use nenhum componente fora da data de validade indicada no respectivo rótulo.
- Deve ser estabelecida uma curva padrão em cada ensaio.
- Recomenda-se realizar o ensaio em duplicata.
- Antes do uso, os calibradores e os controles devem ser misturados por inversão ou rotação suave, evitando-se agitá-los em vórtex.

#### Regas básicas de segurança para radiação

A compra, a posse, o uso e a transferência de materiais radioativos estão sujeitos às regulamentações do país em que eles forem utilizados. O cumprimento das regras básicas de segurança radiológica deve fornecer uma proteção adequada:

- Não se deve comer, beber, fumar nem aplicar cosméticos na presença de materiais radioativos.
- Não pipetar com a boca.
- Evite todo contato com materiais radioativos usando luvas e jaleco de laboratório.
- Toda manipulação de substâncias radioativas deve ser efetuada em local apropriado e longe de corredores e outras áreas muito frequentadas.
- Os materiais radioativos devem ser armazenados no recipiente fornecido e numa área designada.
- É necessário manter atualizado um registro de recebimento e armazenamento de todos os produtos radioativos.
- Os equipamentos e os objetos de vidro de laboratório que estejam sujeitos a contaminação devem ser segregados para se evitar a contaminação cruzada de diferentes radioisótopos.
- Cada caso de contaminação radioativa ou perda de material radioativo deve ser resolvido de acordo com os procedimentos estabelecidos.
- Os resíduos radioativos devem ser tratados de acordo com as regras estabelecidas por cada país.

#### Azida sódica

Alguns reagentes contêm azida sódica como conservante. A azida sódica pode reagir com as canalizações de chumbo ou cobre formando azidas metálicas altamente explosivas. Ao descartar líquidos, lave com uma grande quantidade de água para evitar a acumulação de azida [2].

#### Materiais de origem humana

As amostras de pacientes e os produtos hemoderivados podem ser regularmente processados com o mínimo de risco seguindo-se o procedimento descrito. Contudo, manuseie esses produtos como sendo potencialmente infecciosos e de acordo com as precauções universais e as

boas práticas dos laboratórios clínicos, independentemente da sua origem, tratamento ou certificação anterior. Utilize um desinfetante apropriado para descontaminação. Armazene e descarte esses materiais e os respectivos recipientes de acordo com os regulamentos e as diretrizes locais.

### CLASSIFICAÇÃO DE PERIGO DO GHS

Não classificado como perigoso



A Folha de dados de segurança está disponível em [techdocs.beckmancoulter.com](http://techdocs.beckmancoulter.com)

### COLHEITA, PROCESSAMENTO, ARMAZENAGEM E DILUIÇÃO DA AMOSTRA

- O tipo de amostra recomendado é soro.
- Deixe que as amostras de soro coagulem completamente antes da centrifugação.
- As amostras de soro podem ser armazenadas a 2–8°C se o teste for realizado no espaço de 24 horas. Para um armazenamento mais longo, mantenha-as congeladas a < -20°C, por até 2 meses [3]. Recomenda-se preparar alíquotas para evitar congelamentos e descongelamentos repetidos. O descongelamento de amostras deve ser efetuado à temperatura ambiente.
- As amostras congeladas devem ser descongeladas e bem misturadas por inversão ou rotação suave antes do uso.
- As eventuais amostras cujas leituras estejam acima da concentração do calibrador mais alto não devem ser diluídas. A diluição irá alterar a proporção entre a testosterona livre e a testosterona ligada.

### MATERIAIS FORNECIDOS

Todos os reagentes do kit ainda não abertos permanecem estáveis até a data de validade indicada no rótulo do kit, quando armazenado a 2–8°C. As datas de validade impressa nos rótulos dos frascos se aplicam somente ao armazenamento de longo prazo dos componentes pelo fabricante, antes da montagem do kit. Não levar em consideração.

As condições de armazenamento dos reagentes abertos estão indicadas nos parágrafos pertinentes.

**Tubos revestidos de anticorpo antitestosterona livre: 2 x 50 tubos** (prontos para uso)

Tubos plásticos com imunoglobulina de coelho antitestosterona imobilizada na parede interna de cada tubo.

**Rastreador de análogo de testosterona marcado com <sup>125</sup>I (AMARELO): um frasco de 22 mL** (pronto para uso)

Na data de fabricação, o frasco contém 185 kBq (<5 µCi) de análogo de testosterona marcado com <sup>125</sup>I em tampão com proteínas (BSA), azida sódica (<0,1%) e um corante.

**Calibradores: um frasco de 1,0 mL identificado como 0, e sete frascos de 0,5 mL identificados como 1–7** (prontos para uso)

Os frascos do calibrador contêm entre 0 e aproximadamente 100 pg/mL (entre 0 e aproximadamente 346,7 pmol/L) de testosterona livre em soro humano com azida sódica (< 0,1%). A concentração exata está indicada no rótulo de cada frasco. Após a abertura, armazenar a 2–8°C por até 3 semanas, ou a < -20°C até a data de validade do kit. Os valores dos calibradores foram estabelecidos utilizando um padrão interno.

**Controles: dois frascos de 0,5 mL identificados com 1, 2** (prontos para uso)

Os frascos contêm testosterona livre em soro humano com azida sódica (<0,1%). Os valores esperados estão dentro do intervalo de concentração indicado em um suplemento incluído no kit. Após a abertura, armazenar a 2–8°C por até 3 semanas, ou a < -20°C até a data de validade do kit.

### MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Além de equipamentos de laboratório padrão, são necessários os seguintes itens:

- Tubos de teste de plástico ou de vidro de 12 x 75 mm para as contagens totais.
- Suporte para tubos de teste de 12 x 75 mm.
- Micropipeta de precisão (50 µL).
- Pipetas semiautomáticas (200 µL, 3,0 mL).

- Água deionizada.
- Misturador vórtex.
- Banho-maria com temperatura controlada, 37°C ± 2°C.
- Um suporte de esponja ou dispositivo similar para decantação.
- Material absorvente para secagem dos tubos.
- Contador gama ajustado para iodo 125.

## PROCEDIMENTO

### Preparação dos reagentes

Deixe todos os reagentes atingirem a temperatura ambiente e misture bem por inversão suave antes do uso.

### Procedimento do ensaio

Processe os calibradores, os controles e as amostras de pacientes em duplicata.

Etapa 1 Adições	Etapa 2 Incubação e lavagem	Etapa 3 Lavagem e contagem
No fundo dos tubos revestidos de anticorpos, adicione sucessivamente:  50 µL de calibrador, controle ou amostra, adicione imediatamente 200 µL de rastreador.*	Cubra e incube durante 60 min em banho-maria a 37°C ± 2°C.  Decante todos os tubos (exceto os tubos "total cpm" ["cpm total"]) por inversão simultânea com um rack de esponja em um recipiente para resíduos radioativos.  Bata os tubos vigorosamente em papel absorvente para facilitar a drenagem completa.  Adicione 3,0 mL de água deionizada a todos os tubos, exceto os de "total cpm" ("cpm total").	Decante todos os tubos (exceto os tubos "total cpm" ["cpm total"]) por inversão simultânea com um rack de esponja em um recipiente para resíduos radioativos.  Bata os tubos vigorosamente em papel absorvente para facilitar a drenagem completa.  Drene sobre material absorvente por um mínimo de 2 minutos. Absorva as gotículas situadas nas bordas dos tubos.  Conte a cpm de ligação (B) e a cpm total (T) durante 1 minuto.
Misture em vórtex.		

\*Adicione 200 µL de rastreador a 2 tubos adicionais para obter a "total cpm" ("cpm total").

## RESULTADOS

Os resultados são obtidos a partir da curva padrão por interpolação. A curva é usada para a determinação das concentrações de testosterona livre em amostras medidas ao mesmo tempo que os calibradores.

### Curva padrão

Os resultados no departamento de controle de qualidade foram calculados usando o ajuste da curva *spline* com  $B/T$  ou  $B/B_0$  no eixo vertical lin e a concentração de analito dos calibradores no eixo horizontal log (pg/mL).

Outros métodos de redução de dados podem produzir resultados ligeiramente diferentes.

$ED_{50} = 3,710$  pg/mL

Atividade total: 62.502 cpm				
Calibradores	Testosterona Livre (pg/mL)	cpm (n=2)	B/T (%)	B/B <sub>0</sub> (%)
0	0	28.056	44,89	100,0
1	0,23	23.889	38,22	85,15
2	0,90	18.675	29,88	66,56
3	2,80	15.016	24,03	53,52
4	9,50	10.466	16,75	37,30
5	26,00	6.682	10,69	23,82
6	50,00	4.466	7,15	15,92
7	100,0	2.989	4,78	10,66

(Exemplo de curva padrão, não utilizar para cálculo)

## Amostras

Para cada amostra, localize a relação  $B/T$  ou  $B/B_0$  no eixo vertical da curva padrão e leia a concentração correspondente de testosterona livre da amostra no eixo horizontal em pg/mL.

Para converter concentrações de pg/mL para pmol/L, multiplique os resultados por 3,47.

## VALORES ESPERADOS

Cada laboratório deve estabelecer seus próprios intervalos de referência. Os valores apresentados a seguir foram obtidos utilizando amostras de soro de adultos normais aparentemente saudáveis.

Homens (idade em anos)	n	Mediana (pg/mL)	Mín (pg/mL)	Máx (pg/mL)	2,5 <sup>o</sup> percentil (pg/mL)	97,5 <sup>o</sup> percentil (pg/mL)
20 - 29	30	15,40	7,54	27,79	8,68	25,09
30 - 39	30	14,94	6,77	22,36	8,85	21,40
40 - 49	30	11,48	7,37	20,47	7,56	18,64
50 e acima	30	9,05	4,52	15,05	5,72	14,21
Todos	120	12,35	4,52	27,79	6,76	22,76

Mulheres	n	Mediana (pg/mL)	Mín (pg/mL)	Máx (pg/mL)	2,5 <sup>o</sup> percentil (pg/mL)	97,5 <sup>o</sup> percentil (pg/mL)
Fase folicular	32	1,48	0,59	4,28	0,64	3,41
Fase Lútea	32	1,44	0,59	3,31	0,60	2,95
Pico	21	1,51	0,81	3,79	0,90	3,79
pré-ovulatório						
Pós-menopausa	13	1,17	0,33	1,97	0,36	1,85
Contraceptivos	19	1,45	0,49	2,81	0,57	2,70

Mulheres aleatórias	n	Mediana (pg/mL)	Mín (pg/mL)	Máx (pg/mL)	2,5 <sup>o</sup> percentil (pg/mL)	97,5 <sup>o</sup> percentil (pg/mL)
Todos	120	1,29	0,33	4,28	0,49	2,87

Para obter informações mais detalhadas sobre os valores esperados nas crianças (classificados por idade e sexo), consulte a folha de dados "APPENDIX" ("ANEXO").

## CONTROLE DE QUALIDADE

As boas práticas de laboratório requerem o uso regular de amostras de controle para garantir a qualidade dos resultados obtidos. Esses controles devem ser processados exatamente da mesma forma que as amostras dos pacientes, e recomenda-se analisar os resultados dos mesmos por meio de métodos estatísticos adequados.

A falha na obtenção de valores apropriados para os controles pode indicar manipulação imprecisa, manuseio incorreto das amostras ou deterioração dos reagentes. No caso de deterioração da embalagem, ou se os dados obtidos mostrarem alguma alteração no desempenho, entre em contato com o revendedor local ou via e-mail [imunochem@beckman.com](mailto:imunochem@beckman.com).

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

(Para obter mais detalhes, consulte o APPENDIX)

Os dados representativos são proporcionados apenas para fins ilustrativos. O desempenho obtido em laboratórios individuais pode variar.

### Sensibilidade

**Limite de detecção (LoD):** 0,13 pg/mL

O LoD para testosterona livre é de 0,13 pg/mL, determinado de acordo com as diretrizes do documento EP17-A2 do CLSI [4] com base nas proporções de falsos positivos ( $\alpha$ ) inferiores a 5% e falsos negativos ( $\beta$ ) inferiores a 5%; usando determinações, com 120 brancos e 120 amostras de baixo nível; e limite de branco (LoB) de 0,05 pg/mL.

**Limite de Quantificação (LoQ):** 0,37 pg/mL

O LoQ da testosterona livre é de 0,37 pg/mL, determinado de acordo com as diretrizes do documento EP17-A2 [4] do CLSI como a concentração mais baixa em que os critérios para erro total máximo foram atendidos.

### Especificidade

O anticorpo usado no ensaio é altamente específico para testosterona livre. Baixas reatividades cruzadas foram obtidas contra várias moléculas relacionadas.

## **Precisão**

### **Repetibilidade e precisão intralaboratorial**

A precisão do ensaio foi determinada de acordo com as diretrizes do documento EP05-A3 do CLSI [5]. Para repetibilidade, os coeficientes de variação observados foram inferiores ou iguais a 13,2% para amostras de soro. Para a precisão intralaboratorial, os coeficientes de variação observados foram inferiores ou iguais a 19,3% para amostras de soro.

## **Exatidão**

### **Linearidade**

O ensaio demonstrou ser linear de 0,30 a 114,11 pg/mL em amostras de soro (determinado de acordo com as diretrizes do documento EP6-A do CLSI [6]).

**Intervalo das medições** (do LoQ até ao calibrador mais alto):

0,37 pg/mL a aproximadamente 100 pg/mL

## **LIMITAÇÕES**

- O não cumprimento destas instruções de uso pode afetar significativamente os resultados.
- Se os tubos não forem secados adequadamente após a decantação, pode ocorrer replicação incorreta, com a consequente geração de resultados espúrios.

- Os resultados devem ser interpretados conjuntamente com o quadro clínico do paciente, incluindo histórico clínico, dados de testes adicionais e outras informações pertinentes.
- Evite o congelamento e o descongelamento repetido de reagentes e espécimes.
- Para obter mais detalhes, consulte o "APPENDIX" (ANEXO) da folha de dados.
- Existe a possibilidade de interferência por anticorpos heterófilos na amostra do paciente. Os pacientes que tenham sido expostos regularmente a animais ou que tenham sido submetidos a imunoterapia ou procedimentos diagnósticos com imunoglobulina ou seus fragmentos podem produzir anticorpos, por exemplo HAMA, que interferem com os imunoenaios. Tais anticorpos interferentes podem produzir resultados errôneos. Os resultados de pacientes suspeitos de terem esses anticorpos devem ser avaliados com cuidado.

## APPENDIX

### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

**ACTIVE** is a trademark of BECKMAN COULTER Inc. and its subsidiaries.

Representative data are provided for illustration only. Performance obtained in individual laboratories may vary

#### SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

**Indications for use:** Radioimmunoassay for the quantitative measurement of free testosterone in human serum. This assay is intended for in vitro diagnostic use. Free testosterone test is used in the diagnosis and treatment of disorders involving the male sex hormones (androgens), including primary and secondary hypogonadism, delayed or precocious puberty, impotence in males and, in female's hirsutism (excessive hair) and virilization (masculinization) due to tumors, polycystic ovaries, and adrenogenital syndromes [7].

Testosterone (17 $\alpha$ -Hydroxy-4-androsten-3-one), a C<sub>19</sub> steroid, is a potent circulating naturally-secreted androgen [8]. In normal postpubertal males, testosterone is secreted primarily by the testes with only a small amount derived from peripheral conversion of 4-Androstene-3,17-dione (ASD) [8]. In adult women, it has been estimated that more than 50% of serum testosterone is derived from peripheral conversion of ASD secreted by the adrenal glands and ovaries, with the remainder derived from direct secretion of testosterone by these glands [9,10]. Testosterone production rates in blood have been estimated at 0.34 mg/day in adult females and more than 20 times this amount in adult males [9,10,11]. Approximately 60% of blood testosterone is normally bound with high affinity to sex hormone-binding globulin (SHBG) [12]; of the remainder, all but 1-2% is loosely bound to albumin.

The percentage bound to SHBG is somewhat lower in males as compared to females [13]. Both the albumin-bound and free fractions may be biologically active, while SHBG effectively inhibits testos-terone action. Approximately half of the blood testosterone is metabolized in the liver to androsterone, etiocholanolone and epiandrosterone; all relatively weak androgens [8,10]. Testosterone is also converted to the potent androgen, dihydrotestosterone (DHT), in certain target tissues. Measurement of the free or unbound fraction of serum testosterone has been proposed as a means of estimating the physiologically bioactive hormone. Free testosterone levels are elevated in women with hyperandro-genism associated with hirsutism in the presence or absence of polycystic ovarian disease [12,13,14].

Traditional methods for measurement of free testosterone involve the addition of [<sup>3</sup>H]-testosterone to serum or plasma, followed by various procedures, e.g. dialysis, filtration and precipitation, to separate the free and bound fractions. The partitioning of the tritiated testosterone is then used to calculate the endogenous bound and free fractions. These indirect methods are time-consuming and labor-intensive and are not practical for routine applications. The DSL4900 ACTIVE Free Testosterone RIA utilizes an [<sup>125</sup>I]-labeled testosterone analog which has low affinity for SHBG and albumin. The analog com-petes with the unbound testosterone in the test sample for binding to specific anti-testosterone polyclonal antibodies, which have been immobilized on the assay tube. This competitive binding format allows direct estimation of unlabeled free testosterone levels in unextracted samples.

#### Interference

Serum samples containing Free Testosterone concentrations of app. 5 and 50 pg/mL were spiked with multiple concentrations of the substances below and assayed using Free Testosterone RIA kit. Values were calculated as described in CLSI EP07 3<sup>rd</sup> Edition [15]. Interference was determined by testing controls (no interfering substance added) and matched test samples

(with interfering substance added). No interference (defined as a shift in dose >10%) was found for interferent up to concentration stated in the table below.

Interferent	Test concentration
Hemoglobin	641 $\mu$ g/mL
Bilirubin (conjugated)	199 $\mu$ g/mL
Bilirubin (unconjugated)	92.7 $\mu$ g/mL
Biotin	1,020 ng/mL
Ascorbic acid	40.5 $\mu$ g/mL
Ibuprofen	122 $\mu$ g/mL
Cholesterol	0.75 mg/mL
Heparin	7,248 ng/mL
Prednisone	384 ng/mL
Prednisolone	1,294 ng/mL
Protein (gamma globulin)	49.5 mg/mL
Rheumatoid factor	3.45 IU/mL
Acetylsalicylic acid	24.2 $\mu$ g/mL
Triglycerides	3.35 mg/mL

#### Specificity

The cross-reactivity of the free testosterone antiserum has been measured against the following compounds according to CLSI recommendations (EP07-3<sup>rd</sup> Edition) [15]. The percent cross-reactivity is expressed as the ratio of measured value minus true value and concentration of cross-reactant.

COMPOUND	Pooled normal serum	
	Crossreactant Conc. (ng/mL)	Cross Reactivity (%)
19-Nortestosterone	8.62	0.068
11-Ketotestosterone	102	0.020
11 $\beta$ -Hydroxytestosterone	14.1	0.029
Androstenediol	14.8	0.010
Methyltestosterone	96.5	0.017
Androstenedione	92.4	0.006
Norethindrone	1,056	0.001
5 $\alpha$ -Androstane-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol	1,076	0.002
5 $\beta$ -Androstane-3,17-dione	1,011	ND
5 $\alpha$ -Androstane-3,17-dione	846	0.001
Danazol	921	0.001
Estradiol	946	0.001
Progesterone	956	0.001
Deoxycorticosterone	911	ND
Androsterone	1,002	ND
Epiandrosterone	943	ND
DHEA	896	ND
Estriol	882	ND
Estrone	913	ND
Corticosterone	951	ND
Cortisol	857	ND
Pregnenolone	944	ND
DHT	168	0.020
Androstenediol Glucuronide	1,031	ND
DHEA-S	922	ND
5 $\alpha$ -Androstan-3 $\beta$ ,17 $\beta$ diol	98.0	0.005
rhSHBG	10,407	ND

\*ND = Non-Detectable (< 0.001%)

COMPOUND	Pooled depleted serum	
	Crossreactant Conc. (ng/mL)	Cross Reactivity (%)
19-Nortestosterone	43.6	0.116
11-Ketotestosterone	6.59	0.026
11 $\beta$ -Hydroxytestosterone	2.62	0.029
Androstenediol	91.6	0.024
Methyltestosterone	11.1	0.005
Androstenedione	10.5	0.004
Norethindrone	40.0	0.002
5 $\alpha$ -Androstane-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol	749	ND
5 $\beta$ -Androstane-3,17-dione	746	ND
5 $\alpha$ -Androstane-3,17-dione	747	ND
Danazol	79.1	0.001
Esradiol	820	ND
Progesterone	8,330	ND
Deoxycorticosterone	7,681	ND
Androsterone	8,280	ND
Epiandrosterone	7,634	ND
DHEA	8,362	ND
Estriol	8,981	ND
Estrone	8,442	ND
Corticosterone	7,197	ND
Cortisol	79,944	ND
Pregnenolone	83,919	ND
DHT	96.1	0.013
Androstenediol Glucuronide	8,111	ND
DHEA-S	89,418	ND
5 $\alpha$ -Androstan-3 $\beta$ ,17 $\beta$ diol	43.1	0.001
rhSHBG	55,556	ND

\*ND = Non-Detectable (< 0.001%)

#### Precision

#### Repeatability and within-laboratory precision

Five serum samples were assayed for 20 days, 2 runs per day, triplicates per run. Assays were performed by two lab technicians, by two reagent lots. There were 120 individual measurements per sample with no invalid results.

Serum	Mean (pg/mL)	Repeatability		Within-laboratory precision	
		SD (pg/mL)	C.V. (%)	SD (pg/mL)	C.V. (%)
S1	0.65	0.09	13.23	0.12	19.32
S2	7.89	0.71	8.95	0.90	11.43
S3	13.65	1.44	10.54	1.67	12.20
S4	40.29	2.58	6.42	3.49	8.68
S5	74.29	4.80	6.47	5.78	7.78

#### Expected data for children

Results are sorted according to the age and sex.

Subgroups "Infant, Child and Adolescent" were defined according to Premarket Assessment of Pediatric Medical Devices, Guidance for Industry and Food and Drug Administration Staff, March 2014.

The second tables provide more detailed age discrimination at the onset of puberty.

Free Testosterone (pg/mL)						
Boys	N	Median	Min.	Max.	2.5 <sup>th</sup> percentile	97.5 <sup>th</sup> percentile
Infant	18	< 0.13	< 0.13	0.31	< 0.13	0.28
Child	48	0.56	0.13	12.79	0.16	12.65
Adolescent	30	15.10	1.71	32.09	1.88	28.55

Free Testosterone (pg/mL)						
Boys	N	Median	Min.	Max.	2.5 <sup>th</sup> percentile	97.5 <sup>th</sup> percentile
6 months - 9 years	36	0.20	< 0.13	0.62	< 0.13	0.54
10 - 11 years	20	0.67	0.41	5.11	0.42	5.00
12 - 13 years	20	6.21	0.60	27.21	0.63	23.27
14 - 15 years	20	18.71	5.50	32.09	8.03	28.77

Free Testosterone (pg/mL)						
Girls	N	Median	Min.	Max.	2.5 <sup>th</sup> percentile	97.5 <sup>th</sup> percentile
Infant	34	< 0.13	< 0.13	0.42	< 0.13	0.33
Child	55	0.46	< 0.13	2.53	< 0.13	1.90
Adolescent	30	1.37	0.57	3.27	0.64	3.23

Free Testosterone (pg/mL)						
Girls	N	Median	Min.	Max.	2.5 <sup>th</sup> percentile	97.5 <sup>th</sup> percentile
6 months - 9 years	69	0.24	< 0.13	0.86	< 0.13	0.57
10 - 12 years	20	0.88	0.37	2.53	0.41	2.25
13 - 16 years	20	1.42	0.57	3.27	0.65	3.24

#### Method Comparison:

The current version of Active® Free Testosterone RIA (Method A) was compared to previous version of Active® Free Testosterone RIA (Method B):

n	Range (pg/mL)	Slope	Intercept	r
278	0.26 - 101.21	1.0078	0.0759	0.9956

#### <sup>125</sup>I Characteristics

T<sub>1/2</sub> (<sup>125</sup>I) = 1443 h = 60.14 d

<sup>125</sup> I	E (MeV)	%
Y	0.035	
X	0.027	114
	0.032	25

## Symbols Key



Biohazard / Risque biologique / Biogefährdung / Rischio biologico / Riesgo biológico / Risco biológico / Biologisk fara / Βιολογικός κίνδυνος / 生物危害 / Biologisk fara / Veszélyes biológiai anyag / Zagrożenie biologiczne / Biologické riziko / Biologické riziko / 생물학적 위험 / Biyolojik tehlike / Биологическая опасность / Биологична опасност / 生物危害



Radioactive / Radioactif / Radioaktiv / Radioattivo / Radiactivo / Radioactivo / Radioaktivt / Ραδιενεργό / 放射性 / Radioaktivtyoij medžiaga / Radioaktiv / Radioaktywny / Radioaktivní / Rádioaktívny / 방사성 / Radyoaktif / Радиоактивный / Радиоактивен / 具放射性



Tracer / Traceur / Tracer / Marcato / Trazador / Marcador / / Ανιχνευτής / 追踪剂 / Atsekamoji medžiaga / Nyomjelző / Znacznik / Radioindikátor / Indikátor (tracer) / 트레이서 / Tracer'lar / метка / Индикатор / 追蹤劑



Calibrator / Calibrateur / Kalibrator / Calibratore / Calibrador / Calibrador / Kalibrator / Βαθμονομητής / 校准品 / Kalibravimo medžiaga / Kalibrátor / Kalibrator / kalibrátor / Kalibrátor / 보정 물질 / Kalibratör / Калибратор / Калибратор / 校正液



Control / Contrôle / Kontrolle / Contollo / Control / Controllo / Kontrolle / Μάρτυρας / 质控品 / Kontrolinė / Kontroll / Kontrola / Kontrola / Контроль / Контроль / 質控品



Tubes / tubes / Röhrchen / provette / tubos / Tubos de amostra / Provrör / σωληνώματα / 试管 / Mégintüveliai / Csövek / Probówki / Zkumavky / Skúmavky / 튜브 / Tüpler / пробирки / Епруветки / 試管



Instruction for Use / Mode d'emploi / Gebrauchsanweisung / Istruzioni per l'uso / Instrucciones de uso / Instruções de utilização / Bruksanvisning / Οδηγίες χρήσης / 使用说明 / Naudojimo instrukcija / Használati utasítás / Instrukcja użycia / Návod k použití / Návod na použitie / 사용 안내 / Kullanma Talimatı / Инструкции / Инструкции за употреба / 使用说明



Product Reference / Référence du produit / Produktreferenz / Riferimento prodotto / Número de referencia del producto / Referência do produto / Produktreferens / Κωδικός αναφοράς προϊόντος / 产品参考 / Gaminio nuoroda / Termékszám / Dane referencyjne produktu / Referenca k produktu / Referenčné označenie výrobku / 제품 참조 자료 / Ürün Referansı / Ссылка на продукт / Референция за продукт / 產品參考



In Vitro Diagnostic / Diagnostic in vitro / In-vitro-Diagnostikum / Diagnostica in vitro / Para diagnóstico in vitro / Diagnóstico in vitro / InVitro-diagnostik / Για διάγνωση in vitro / 体外诊断 / In vitro diagnostika / In vitro diagnostikai felhasználásra / Diagnostyka in vitro / Diagnostika in vitro / 체외 진단 / In Vitro Diagnostik / Diagnostika in vitro / Ин vitro диагностика / 體外診斷



Contents / Contenu / Inhalt / Contenuto / Contenido / Conteúdo / Περιεχόμενο / 组成 / Rinkinio sudėtis / Tartalom / Zawartość / Obsah / Obsah / 내용물 / İçindekiler / Содержание / Съдържание / 目錄



Manufactured by / Fabriqué par / Hergestellt von / Prodotto da / Fabricado por / Tillverkas av / Κατασκευαστής / 制造商 / Gamintojas / Gyártó / Producent / Výrobce / Výrobca / 제조 / Üretici / Изготовлено / Произведено от / 製造商



Contains sufficient for <n> tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenido suficiente para <n> ensayos / Zawartość wystarcza na <n> testów / Lze použít pro <n> testů / Obsah vystačí na <n> testov / <n> 테스트에 대해 충분한 양 포함 / <n> sayida test için yeterlidir / Содержит достаточно для количества тестов: <n> / Съдържа достатъчно за <n> теста / 內容物足夠執行 <n> 次測試



CE Mark / Marquage CE / CE-Kennzeichnung / Marchio CE / Mercado CE / Marcação CE / CE-márkning / Σήμανση CE / CE 标志 / CE ženklas / CE jelzés / Znak CE / Знаčka CE / Označenie CE / CE 표시 / CE İşareti / Маркировка CE / CE маркировка / CE 標識



Safety Data Sheet / Fiche technique santé-sécurité / Sicherheitsdatenblatt / Scheda dati di sicurezza / Hoja de datos de seguridad / Ficha de Dados de Segurança / Säkerhetsdatablad / Φύλλο Δεδομένων Ασφάλειας / 安全数据单 / Saugos duomenų lapas / Biztonsági adatlap / Karta Charakterystyki Bezpieczeństwa / Bezpečnostní list / Bezpečnostný list / 안전보건자료 / Güvenlik Bilgi Formu / Паспорт безопасности / Информационен Лист За Безопасност / 安全性資料表



Consult Instructions for Use / Consultez le mode d'emploi / Siehe Gebrauchsanweisung / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las Instrucciones de uso / Instruções de utilização / Konsultera bruksanvisning / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / 请参阅使用说明 / Zapoznać się z instrukcją użycia / Postępujcie podle návodu k použití / Prečítajte si návod na použitie / 사용 안내 문의 / Kullanma Talimatına Başvurun / Обратитесь к инструкциям / Вижете Инструкциите за употреба / 請參閱使用說明



Temperature range(s) / Plage(s) de température / Temperaturbereich(e) / Intervallo/i di temperatura / Intervalo(s) de temperatura / Intervalo(s) de temperatura / Temperaturintervall / Εύρος(-η) θερμοκρασίας / 温度范围 / Temperatūros diapazonas (-ai) / Hőmérséklet-tartomány(ok) / Zakres(y) temperatury / Rozsahy teplot / Rozsah(y) teploty / 온도 범위 / Sıcaklık aralıkları / Диапазон(-ы) температуры / Температурен(ни) диапазон(и) / 溫度範圍



Caution / Précaution / Achtung / Attenzione / Precaución / Atenção / Försiktighet / Προσοχή / 注意事项 / Ispejimas / Figyelem / Uwaga / Urozozmení / Urozozomenie / 주의 / Dikkat / Внимание / 注意



Expiration Date / Date D'expiration / Verfallsdatum, Verw. bis: / Data Di Scadenza / Fecha De Caducidad / Data de validade / Utgångsdatum / Ημερομηνία λήξης / 失效日期 / Galijimo data / Lejárati idő / Data ważności / Datum expirace / Datum expirácie / 만료 날짜 / Son Kullanma Tarihi / Срок годности / Срок на годност / 到期日



Lot Number / Numéro de lot / Chargennummer / Numero di lotto / Lote número / Número de lote / Satsnummer / Αριθ. παρτίδας / 批次号 / partijos numeris / Tételszám / Numer serii / Číslo šarže / 로트 번호 / Lot Numarası / Номер партии / Номер на партида / 批號



Date of Manufacture / Date de Fabrication / Herstellungsdatum / Data di Fabbricazione / Fecha de Fabricación / Data de Fabrico / Produktionsdatum / Ημερομηνία Παραγωγής / 生产日期 / Pagaminimo Data / Gyártás Dátuma / Data Produkcji / Datum Výroby / Dátum Výroby / 제조 일자 / Üretim Tarihi / Дата Производства / Дата на Производство / 製造日期

21 February 2020

## REFERENCES

1. Yalow R, Berson S: Introduction and general considerations. IN: Odell WD, Daughday WH (eds): J.B. Lippencott Co., Philadelphia, 1971, pp. 1-19.
2. DHHS (NIOSH) Publication No. 78-127, August 1976. Current Intelligence Bulletin 13 - Explosive Azide Hazard. Available <http://www.cdc.gov/niosh>.
3. Tietz Clinical Guide To Laboratory Tests (4th. edition). Alan H.B.Wu. Saunders Elsevier, 2006.
4. Approved Guideline - Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures, EP17-A2. June 2012. Clinical and Laboratory Standards Institute.
5. Approved Guideline – Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures, EP05-A3. October 2014. Clinical and Laboratory Standards Institute.
6. Approved Guideline - Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach, EP6-A. April 2003. Clinical and Laboratory Standards Institute.
7. Code of Federal Regulations; Title 21, Volume 8, Section 862.1680, Revised as of April 1, 2019.
8. Dorfman RI, Shipley RA: Androgens. John Wiley and Sons, Inc., New York, 1956, pp. 116-128.
9. Horton R, Tait JF: Androstenedione production and interconversion rates measured in peripheral blood and studies on the possible site of its conversion to testosterone. J Clin Invest 45:301-313, 1966.
10. Pang S, Riddick L: Hirsutism. IN Lifshitz F (ed): Marcel Dekker, Inc., New York, 1990, pp. 259-291.
11. Androgen resistance syndromes: 5 $\alpha$ -reductase deficiency, testicular feminization, and related syndromes. IN Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds): The Metabolic Basis of Inherited Disease, 6th edition. McGraw-Hill, New York, 1989, pp. 1919-1944.
12. Cumming DC, Wall SR: Non-sex hormone binding globulin-bound testosterone as a marker for hyperandrogenism. J Clin Endocrinol Metab 61:873-876, 1985.
13. Westphal U: Steroid-Protein Interactions. Springer-Verlag, Berlin, 1986
14. Pugeat M, Nicolas MH, Craves JC, Alvarado-Dubost C, Fimbel S, Dechaud, Lejeune H: Androgens in polycystic ovarian syndrome. IN Tolis G, Bringer J, Chrousos GP (eds): Intraovarian regulators and polycystic ovarian syndrome. NY Academy of Sciences, New York, 1993, pp. 124-135.
15. Approved Guideline - Interference Testing in Clinical Chemistry, EP07 3<sup>rd</sup> Edition. April 2018. Clinical and Laboratory Standards Institute.