



ACTIVE Androstenedione RIA

REF DSL3800

TABLE OF CONTENTS

English	2	Polski	30
Français	4	Čeština	33
Deutsch	7	Slovenčina	36
Italiano	10	Türkçe	39
Español	13	Русский	42
Português (Portugal)	16	中文 ZH-TW	45
Dansk	19	Србија	47
Ελληνικά	22	APPENDIX	50
中文 ZH-CH	25	REFERENCES	53
Magyar	27		

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 Telephone: 0800-771-8818

ООО «Бекмен Култер», 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 Androstenedione RIA

REF DSL3800

RADIOIMMUNOASSAY KIT FOR THE QUANTITATIVE MEASUREMENT OF ANDROSTENEDIONE IN HUMAN SERUM OR PLASMA THIS ASSAY IS INTENDED FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE

PRINCIPLE

The radioimmunoassay of androstenedione (ASD, 4-Androstene-3,17-dione) is a competitive assay. The procedure follows the basic principle of radioimmunoassay where there is a competition between a radioactive and a non-radioactive antigen for a fixed number of antibody binding sites. The amount of [¹²⁵I]-labeled androstenedione bound to the antibody is inversely proportional to the concentration of unlabeled androstenedione present [1]. 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 androstenedione 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.

Material 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

SPECIMEN COLLECTION, PROCESSING, STORAGE AND DILUTION

- Serum and plasma-EDTA are the recommended sample types.
- Allow serum samples to clot completely before centrifugation.
- Samples may be stored at 2-8°C, if the assay is to be performed within 24 hours. For longer storage, keep frozen at <-18°C for 1 year maximum, after aliquoting so as 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 be diluted twice with the 0 ng/mL calibrator and reassayed. Further dilution give cause erroneous results.

Serum and EDTA-plasma values for 20 samples (serum values ranging from 0.50 to 2.07 ng/mL) were compared using the DSL3800 Androstenedione RIA kit. Results are as follows:

[EDTA-plasma] = 1.03 [serum] - 0.03

R = 0.9758

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.

Anti-Androstenedione-Coated Tubes: 2 x 50 tubes (ready-to-use)

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

¹²⁵I-labeled Androstenedione Tracer: one 55 mL vial (ready-to-use)

At the time of manufacture, the vial contains 185 kBq (<5 µCi) of ¹²⁵I-labeled androstenedione in buffer with proteins and sodium azide (<0.1%).

Calibrators: one vial labeled 0 and five vials labeled 1-5 (lyophilized)

The calibrator vials contain from 0 to approximately 10.0 ng/mL (0 to approximately 34.9 nmol/L) of androstenedione in human serum with sodium azide (<0.1%). The exact concentration is indicated on each vial label. The volume for reconstitution is indicated on the vial label. After reconstitution, 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 vials labeled 1, 2 (lyophilized)

The vials contain androstenedione in human serum with sodium azide (<0.1%). The expected values are indicated in a supplement found in the kit. The volume for reconstitution is indicated on the vial label. After reconstitution, 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).
- Deionized water.
- Semi-automatic pipet (500 µL).
- Waterbath, 37°C ± 2°C.
- A sponge rack for decantation or similar device.
- Absorbent material for blotting tubes.
- Gamma counter set for 125 iodine.

RESULTS

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

Standard curve

The results in the quality control department were calculated using *weighted cubic regression* curve fit with B/T or B/B_0 on the logit vertical axis and analyte concentration of the calibrators on the logarithmic horizontal axis (ng/mL).

$ED_{50} = 1.23$ ng/mL.

Other data reduction methods may give slightly different results.

Total activity: 62,710 cpm				
Calibrators	Andro. (ng/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	23,317	37.2	100
1	0.13	20,425	32.6	87.6
2	0.31	17,375	27.7	74.5
3	1.00	12,542	20.0	53.8
4	3.00	8,284	13.2	35.5
5	10.5	4,498	7.2	19.3

(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 androstenedione concentration of the sample on the horizontal axis in ng/mL. To convert concentrations from ng/mL to nmol/L, multiply results by 3.49.

EXPECTED VALUES

Each laboratory should establish its own reference ranges. Results of a normal range study conducted by an independent laboratory are reported below and are provided for reference only.

Population	N	Median	Min-Max	2.5th - 97.5th percentile
				(ng/mL)
Males	132	1.15	0.62 - 3.12	0.64 - 2.97
Females	99	1.09	0.24 - 3.44	0.35 - 2.78
Postmenopausal Females	50	0.86	0.22 - 2.24	0.30 - 2.07

(For more details, see 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 use the following e-mail address: imunochem@beckman.com

PROCEDURE

Preparation of reagents

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

Reconstitution of calibrators and control sample

The content of the vials is reconstituted with the volume of deionized water indicated on the vial label. Wait for 10 min following reconstitution and mix gently to avoid foaming before dispensing.

Assay procedure

Bring all reagents to room temperature before pipeting.

Step 1 Additions*	Step 2 Incubation	Step 3 Counting
To antibody coated tubes successively add: 50 µL of calibrator, control or sample, Immediately add 500 µL of tracer. Mix rack vigorously by hand.	Incubate 1 hour at 37°C in water bath.	Aspirate or decant tubes, (except «total cpm» tubes), by simultaneous inversion with a sponge rack into a radioactive waste receptacle. Strike tubes sharply and drain on absorbent material for >2 minutes and gently blot the tubes. Count bound cpm (B) and total cpm (T) for 1 minute.

*Add 500 µL of tracer to 2 additional tubes to obtain «total cpm».

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

(For more details, see APPENDIX)

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

Sensitivity

Analytical sensitivity: 0.05 ng/mL

Functional sensitivity: 0.09 ng/mL

Specificity

The antibody used in the immunoassay is highly specific for androstenedione. Low (<1%) cross reactivities were obtained with several related molecules (Androsterone, 17 OH progesterone, cortisone etc).

Precision

Intra-assay

Serum samples were assayed 25 times in the same run. The coefficients of variation were $\leq 7.5\%$.

Inter-assay

Serum samples were assayed in duplicate in 10 different runs. The coefficients of variation were $\leq 11.3\%$.

Accuracy

Dilution test

High-concentration serum samples were serially diluted with zero calibrator. The recovery percentages ranged from 81.6% to 99.4%.

Recovery test

Low-concentration serum samples were spiked with known quantities of androstenedione. The recovery percentages ranged from 93.0% to 111%.

Measurement range (from analytical sensitivity to highest calibrator): 0.05 to approximately 10.0 ng/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.
- Do not use hemolyzed, lipemic or icteric samples.
- 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 Androstenedione RIA

REF DSL3800

TROUSSE RADIOIMMUNOLOGIQUE POUR LE DOSAGE QUANTITATIF D'ANDROSTENEDIONE DANS LE SERUM OU PLASMA HUMAIN CE DOSAGE A ETE CONÇU POUR USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO

PRINCIPE

Le dosage radioimmunologique d'androstènedione, (ASD, 4-androstène-3,17-dione) 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. La quantité d'androstènedione marquée à [125] liée à l'anticorps est inversement proportionnelle à la concentration en androstènedione non marquée présente [1]. La séparation des antigènes libres et liés s'effectue par décantation ou aspiration des tubes enduits 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.

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

SDS

La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse techdocs.beckmancoulter.com

PRELEVEMENT, PREPARATION, CONSERVATION ET DILUTION DES ECHANTILLONS

- Recueillir le sang dans des tubes secs sans additif ou avec EDTA.
- Pour les sérums, laisser les échantillons coaguler complètement avant la centrifugation.
- Les échantillons peuvent être conservés à 2-8 °C si le dosage est réalisé dans les 24 heures. Pour des périodes plus longues, il est préférable de les conserver congelés, de préférence aliquotés (à <-18 °C, 1 au maximum) afin d'éviter les congélations et décongélations successives. La décongélation de l'échantillon peut être réalisée à température ambiante.
- Les spécimens congelés doivent être décongelés et bien mélangés par tourbillon ou inversion douce avant leur emploi.
- Tout échantillon plus élevé que le plus haut calibrateur devra être dilué deux fois avec du calibrateur zero et redosé. Une dilution supplémentaire peut entraîner des résultats erronés.

Des valeurs sériques et de plasma EDTA de 20 échantillons (valeurs sériques allant de 0,50 à 2,07 ng/mL) ont été comparées au moyen du kit RIA DSL3800 pour d'androstènedione. Les résultats sont comme suit :

[plasma] = 1,03 [sérum] - 0,03

R = 0.9758

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.

Si nécessaire, les conditions de conservation des réactifs ouverts, sont indiquées dans le paragraphe correspondant.

Tubes revêtus d'anticorps anti-androstènedione : 2 x 50 tubes (prêt à l'emploi)

Tubes en plastique, avec des immunoglobulines de lapin anti-androstènedione immobilisées sur la paroi interne de chaque tube.

Traceur androstènedione marqué à l'iode ¹²⁵: 1 flacon de 55 mL (prêt à l'emploi)

Le flacon contient 185 kBq (<5 µCi), en début de lot, d'androstènedione marquée à l'iode 125 dans un tampon à base de protéine avec d'azide de sodium (<0,1 %).

Calibrateurs: 1 flacon marqué 0 + 5 flacons, marqués 1-5 (lyophilisées)

Les flacons de calibrateur contiennent entre 0 à environ 10,0 ng/mL (0 à environ 34,9 nmol/L) d'androstènedione dans du sérum humain avec de l'azide de sodium (<0,1 %). La concentration exacte est indiquée sur chaque flacon. Reconstituer le contenu des flacons avec d'eau désionisée, le volume est indiqué sur les étiquettes. Après reconstitution, entreposer entre 2-8 °C jusqu'à 3 semaines ou à -20 °C ou plus bas jusqu'à la date de péremption de la trousse.

Les calibrateurs sont validés sur un standard interne de référence.

Contrôles : 2 flacons, marqués 1, 2 (lyophilisées)

Les flacons contiennent d'androstènedione, dans du sérum humain avec de l'azide de sodium (<0,1 %). Les valeurs attendues sont comprises dans la fourchette de concentrations indiquée sur le supplément. Reconstituer le contenu des flacons avec d'eau désionisée, le volume est indiqué sur les étiquettes. Après reconstitution, entreposer entre 2-8 °C jusqu'à 3 semaines ou à -20 °C ou plus bas jusqu'à la date de péremption 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).
- Eau déionisée.
- pipette semi-automatique (500 µL).
- 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.

RÉSULTATS

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

Courbe standard

Les résultats dans le département de contrôle de la qualité ont été calculés *régression cubique pondérée* avec B/T ou B/B_0 sur l'axe logit vertical et la concentration en analyte des calibrateurs sur l'axe logarithmique horizontal (ng/mL).

$ED_{50} = 1,23$ ng/mL.

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

Activité totale : 62 710 cpm				
Calibrateurs	Andro. (ng/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	23 317	37,2	100
1	0,13	20 425	32,6	87,6
2	0,31	17 375	27,7	74,5
3	1,00	12 542	20,0	53,8
4	3,00	8 284	13,2	35,5
5	10,5	4 498	7,2	19,3

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

Echantillons

Pour chaque échantillon, repérer le rapport B/T ou B/B₀ sur l'axe vertical, puis le point correspondant de la courbe standard et en déduire par lecture sur l'axe horizontal la concentration en androstènedione de l'échantillon. Pour convertir des concentrations de ng/mL en nmol/L, multipliez les résultats par 3,49.

VALEURS ATTENDUES

Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs normales. Les résultats d'études de fourchettes normales effectuées par un laboratoire indépendant sont rapportés ci-dessous à titre indicatif :

Population	N	Médiane	Fourchette Attendue	2.5 - 97.5 percentile
Hommes	132	1,15	0,62 - 3,12	0,64 - 2,97
Femmes	99	1,09	0,24 - 3,44	0,35 - 2,78
Femmes postménopausiques	50	0,86	0,22 - 2,24	0,30 - 2,07

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

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.

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

PROCÉDURE

Préparation des réactifs

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

Reconstitution des calibrateurs et de l'échantillon de contrôle

Reconstituer le contenu des flacons avec d'eau déionisée, le volume est indiqué sur les étiquettes. Attendre 10 minutes après reconstitution et agiter doucement en évitant la formation de mousse avant de répartir dans les tubes.

Mode opératoire

Équilibrer les réactifs à la température du laboratoire avant utilisation.

Etape 1 Répartition*	Etape 2 Incubation	Etape 3 Comptage
<p>Au fond des tubes revêtus, distribuer successivement :</p> <p>50 µL de calibrateur, de contrôle ou d'échantillon, et immédiatement</p> <p>500 µL de traceur.</p> <p>Agiter vigoureusement à la main.</p>	<p>Incuber 1 heure au bain-marie à 37 °C</p>	<p>Aspirer ou décanter tous les tubes, par inversion simultanée avec une claie en éponge dans un récipient à déchets radioactifs (sauf les 2 tubes «cpm totaux»). Laisser égoutter sur du matériel absorbant pendant 2 minutes et éponger doucement les tubes.</p> <p>Compter les cpm liés (B) et les cpm totaux (T) pendant 1 min.</p>

*Ajouter 500 µL de traceur dans 2 tubes supplémentaires pour obtenir les cpm totaux

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

Sensibilité analytique : 0,05 ng/mL

Sensibilité fonctionnelle : 0,09 ng/mL

Spécificité

L'anticorps utilisé dans ce dosage est hautement spécifique de l'androstènedione. Des réactivités croisées basses (<1 %) ont été obtenues vis à vis de quelque molécules proches (androstérone, 17-hydroxyprogesterone, cortisone etc.)

Précision

Intra-essai

Des échantillons sériques ont été dosés 25 fois dans une même série. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 7,5 %.

Inter-essais

Des échantillons sériques ont été dosés en doublet dans 10 séries différentes. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 11,3 %.

Exactitude

Epreuve de dilutions

Des échantillons sériques de concentration élevée ont été dilués dans le calibrateur zéro de la trousse. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 81,6 % et 99,4 %.

Epreuve de surcharge

Des quantités connues d'androstènedione ont été ajoutées à des sérums humains. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 93,0 % et 111 %.

Plage de mesure (de la sensibilité analytique au calibrateur le plus élevé): 0,05-10,0 ng/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.
- La congélation et décongélation répétées des échantillons et des réactifs peut diminuer les taux d'aldostérone.
- Ne pas utiliser de spécimens hémolysés, ictériques ou lipémiques.
- 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. Evaluer avec précaution les résultats de patients suspectés de posséder ces anticorps.

ACTIVE Androstenedione RIA

REF DSL3800

RADIOIMMUNOASSAY FÜR DIE QUANTITATIVEN BESTIMMUNG VON ANDROSTENDION IN HUMANEM SERUM ODER PLASMA DIESER ASSAY IST ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT.

PRINZIP

Der Assay für die Bestimmung von Androstendion (ASD, 4-Androsten-3,17-Dion) 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. Die an den Antikörper gebundene Menge des mit $[^{125}\text{I}]$ -Androstendion ist umgekehrt proportional zur Konzentration des vorhandenen unmarkierten Androstendion [1]. Die Trennung des freien und gebundenen Antigens wird durch Dekantieren oder Absaugen der mit Antikörpern beschichteten Röhrchen erreicht. Unbekannte Probenwerte werden mittels 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.

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 verfügbar

PROBENENTNAHME, -BEHANDLUNG, -LAGERUNG UND VERDÜNNUNG

- Serum oder EDTA-Plasma wird empfohlen.
- Serumproben vor dem Zentrifugieren vollständig gerinnen lassen.
- Urinproben können bei 2-8 °C gelagert werden, wenn der Assay innerhalb von 24h durchgeführt wird. Für eine längere Lagerung sollten die Proben aliquotiert und eingefroren werden (< -18 °C, maximum 1 Jahr), um wiederholtes Auftauen und Einfrieren zu vermeiden. Auftauen sollte bei Raumtemperatur stattfinden.
- Tiefgekühlte Proben sollten vor der Verwendung aufgetaut und durch vorsichtiges Drehen oder Umschwenken gründlich gemischt werden.
- Wenn die Probenkonzentration über dem höchsten Kalibratorwert liegen, müssen sie in Nullkalibrator zweimal verdünnt werden. Zusätzliche Verdünnung kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Die Serum- und EDTA-Plasmawerte von 20 Proben (Serumwerte im Bereich zwischen 0,50 ng/mL und 2,07 ng/mL) wurden unter Verwendung des DSL3800 ANDROSTENEDIONE-RIA-Kits verglichen. Dabei wurden die folgenden Ergebnisse ermittelt:

[Plasma] = 1,03 [Serum] - 0,03

R = 0.9758

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.

Lagerungskonditionen der Reagenzien nach der Öffnung werden in jeweiligem Paragraph erläutert.

Röhrchen mit anti-Androstendion Antikörpern beschichtet: 2 x 50 Röhrchen (gebrauchsfertig)

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

^{125}I -markierter Androstendion Tracer: eine 55 mL Flasche (gebrauchsfertig)

Die Flasche enthält 185 kBq (<5 μCi), (am Tag der Herstellung) des ^{125}I -markierten Androstendions in Puffer mit Proteinen und Natriumazid (<0,1 %).

Kalibratoren: eine Flasche (0) und fünf Fläschchen (1 - 5) (lyophilisiert)

Die Kalibratorfläschchen enthalten Androstendion, Konzentrationsbereich zwischen 0 und bis ungefähr 10,0 ng/mL (0 und bis ungefähr 34,9 nmol/L) in humanem Serum mit Natriumazid (<0,1 %). Die genauen Konzentrationen sind auf jedem Fläschchen angegeben. Der Inhalt der Fläschchen wird mit einem auf dem Etikett angegebenen Volumen deionisiertem Wassers rekonstituieren. Die aufgelösten Kalibratoren können bei 2-8 °C für 3 Wochen, oder bei <-20 °C bis zum Verfallsdatum des Kits gelagert werden.

Die Kalibratoren wurden alle an einem internen Referenzstandard.

Kontrollen: zwei Fläschchen (1, 2) (lyophilisiert)

Die Fläschchen enthalten Androstendion in humanem Serum mit Natriumazid (<0,1 %). Der Konzentrationsbereich ist auf einem Beiblatt in der Packung angegeben. Der Inhalt der Fläschchen wird mit einem auf dem Etikett angegebenen Volumen deionisiertem Wassers rekonstituieren. Die aufgelösten Kontrollen können bei 2-8 °C für 3 Wochen oder bei <-20 °C bis zum Verfallsdatum des Kits gelagert werden.

ERFORDERLICHE, JEDOCH NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Zusätzlich zu der Standardlaborausrüstung, werden die folgenden Materialien benötigt:

- 12 x 75 mm Kunststoff- oder Glasröhrchen zur Bestimmung der Totalaktivität.

- Röhrenständer für 12 x 75 mm Röhren
- Präzisionspipette (50 µL)
- Deionisiertes Wasser
- halbautomatische Pipetten (500 µL).
- Wasserbad mit 37 ± 2 °C.
- Dekantierständer oder Ähnliches.
- Saugfähiges Material zum Austropfen der Röhren
- Gamma-Counter für I-125.

ERGEBNISSE

Die Ergebnisse werden aus der Standardkurve mittels Interpolation ermittelt. Die Kurve wird für die Bestimmung der Androstendion-Konzentration in den Proben genommen, die zur gleichen Zeit wie die Standardkurve gemessen wurden.

Standardkurve

Die Ergebnisse in der Qualitätskontrolle wurden berechnet *gewichtete kubische regression*-Kurvenanpassung mit *B/T* oder *B/B₀* auf der logit vertikalen Achse und der Analytkonzentration der Kalibratoren auf der logarithmischen horizontalen Achse (ng/mL) berechnet.

ED₅₀ = 1,23 ng/mL.

Andere Datenreduktions-Methoden können zu leicht abweichenden Ergebnissen führen.

Totalaktivität: 62 710 cpm				
Kalibratoren	Andro. (ng/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	23 317	37,2	100
1	0,13	20 425	32,6	87,6
2	0,31	17 375	27,7	74,5
3	1,00	12 542	20,0	53,8
4	3,00	8 284	13,2	35,5
5	10,5	4 498	7,2	19,3

(Beispiel einer Standardkurve, nicht zur Berechnung benutzen)

Proben

Für jede Probe wird der B/T oder B/B₀-Wert auf der y-Achse bestimmt und die entsprechende Androstendion-Konzentration (in ng/mL) auf der x-Achse abgelesen. Um die Werte von ng/mL in nmol/L umzurechnen, müssen sie mit 3,49 multipliziert werden.

ERWARTETE WERTE

Jedes Labor sollte seinen eigenen Normbereich festlegen. Die Ergebnisse von Normalbereichsstudien, die von einem unabhängigen Labor durchgeführt wurden, sind unten angegeben:

Population	N	Median	Erwarteter Bereich	2,5-97,5 percentil
Männer	132	1,15	0,62 - 3,12	0,64 - 2,97
Weiblich	99	1,09	0,24 - 3,44	0,35 - 2,78
Postmenopausale Frauen	50	0,86	0,22 - 2,24	0,30 - 2,07

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

QUALITÄTSKONTROLLE

Zur Einhaltung der Guten Laborpraxis sollten regelmäßig Kontrollproben benutzt werden, um die Qualität der Ergebnisse zu sichern. Diese Proben müssen in genau derselben Weise wie die Patientenproben getestet werden und die Analyse der Ergebnisse sollte mit passenden 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: imunochem@beckman.com

DURCHFÜHRUNG

Reagenzienvorbereitung

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

Wiederaufnahme der Kalibrators und Kontrollen

Der Inhalt der Fläschchen wird mit einem auf dem Etikett angegebenen Volumen deionisiertem Wasser wiederaufgenommen. Nach dem Auflösen 10 Minuten warten und nur leicht Mischen, um jegliche Schaumbildung vor dem Pipettieren zu vermeiden.

Testdurchführung

Die Reagenzien sollten vor dem Pipettieren Raumtemperatur haben.

Schritt 1 Zugabe*	Schritt 2 Inkubation	Schritt 3 Messung
Zugabe zu den beschichteten Röhren (in dieser Reihenfolge): 50 µL Kalibrator, Kontrolle oder Probe, unverzüglich 500 µL Tracer. Mischen Sie alles kräftig mit der Hand.	1 Stunde bei 37 °C im Wasserbad inkubieren	Alle Röhren (ausser „Totalaktivität“) durch Umdrehen des Dekantierständers in einen Behälter für radioaktiven Abfall dekantieren oder absaugen. Röhren >2 Minuten auf einer saugfähigen Unterlage austropfen lassen und ausklopfen. Gebundene cpm (B) und Totalaktivität (T) 1 min zählen.

*Fügen Sie 500 µL Tracer in 2 Röhren, um die Totalaktivität zu erhalten.

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

Analytische Sensitivität: 0,05 ng/mL.

Funktionelle Sensitivität: 0,09 ng/mL

Spezifität

Der in diesem Immunoassay verwendete Antikörper ist höchst spezifisch für Androstendion. Niedrige Kreuzreaktionen (<1 %) wurden mit einigen verwandten Molekülen (Androsteron, 17-Hydroxyprogesteron, Cortison etc.) gemessen.

Präzision

Intra-Assay

Serumproben aus derselben Serie wurden 25-mal getestet. Der Variationskoeffizient betrug ≤7,5 %.

Inter-assay

Serumproben aus 10 verschiedenen Serien wurden als Doppelbestimmungen getestet. Der Variationskoeffizient betrug ≤11,3 %.

Genauigkeit

Verdünnungstest

Serumproben mit hohen Konzentrationen wurden mit Nullkalibrator verdünnt. Die erhaltene Wiederfindung befindet sich zwischen 81,6 % und 99,4 %.

Wiederfindungstest

Serumproben mit niedrigen Konzentrationen wurden mit definierten Androstendion -Mengen vermischt. Die erhaltene Wiederfindung befindet sich zwischen 93,0 % und 111 %.

Meßbereich (von der analytischen Sensitivität bis zum höchsten Kalibrator): 0,05 bis ungefähr 10,0 ng/mL.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Die Nichtbeachtung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage kann die Ergebnisse signifikant beeinflussen.
- Wenn die Röhren 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.
- Es dürfen keine hämolytischen, ikterischen oder lipämischen Proben verwendet werden.
- 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 Androstenedione RIA

REF DSL3800

KIT RADIOIMMUNOLOGICO PER LA DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DELL'ANDROSTENEDIONE IN SIERO O PLASMA UMANI

QUESTO TEST È DESTINATO ALL'USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

PRINCIPIO

Il dosaggio dell'androstenedione (ASD, 4-Androstene-3,17-dione) è 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. L'androstenedione marcato con [125I]-legato all'anticorpo è inversamente proporzionale alla concentrazione dell'androstenedione non marcato presente [1]. La separazione dell'antigene libero e legato si ottiene usando un sistema a provette rivestite. 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.

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

PI-DSL3800-02

SDS

La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile su techdocs.beckmancoulter.com

RACCOLTA, MANIPOLAZIONE, DILUIZIONE E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

- Raccogliere i campioni in provette senza anticoagulante o con EDTA.
- Lasciar coagulare completamente i campioni di siero prima della centrifugazione.
- I campioni possono essere conservati fino a 24 ore a 2-8 °C o, suddivisi in aliquote, a -18 °C o a temperature inferiori per periodi più lunghi (fino ad un anno). Evitare ripetuti cicli di congelamento – scongelamento dei campioni. Lo scongelamento deve avvenire a temperatura ambiente.
- Lasciare scongelare i campioni congelati e miscelarli con cura agitandoli o capovolgendoli delicatamente prima dell'uso.
- Diluire due volte con calibratore zero i campioni con concentrazioni di androstenedione superiori a quelle del calibratore a concentrazione più alta. Ulteriore diluizione può causare risultati errati.

Sono stati confrontati i valori di siero e di plasma-EDTA di 20 campioni (valori del siero compresi nel range da 0,50 a 2,07 ng/mL), usando il kit DSL3800 ANDROSTENEDIONE RIA. Sono stati ottenuti i risultati seguenti.

[plasma] = 1,03 [siero] - 0,03

R = 0.9758

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 reattivi, una volta aperti sono riportate nel paragrafo corrispondente.

Provette rivestite di anticorpo anti-androstenedione: 2 x 50 provette (pronti per l'uso)

Provette di plastica, sensibilizzate internamente con immunoglobulina di coniglio anti-androstenedione, adesa alla parete interna di ogni provetta.

Marcato Androstenedione-¹²⁵I: un flacone 55 mL (pronto per l'uso)

Il flacone contiene meno di 185 kBq (<5 µCi), (alla data di marcatura) dell'androstenedione-¹²⁵I in tampone con proteine e sodio azide (<0,1%).

Calibratori: un flacone (0) + 5 flaconi (1-5) (liofilizzati)

I flaconi contengono androstenedione a concentrazioni comprese tra 0 e circa 10,0 ng/mL (0 e circa 34,9 nmol/L) in siero umano con sodio azide (<0,1%). Ricostituire il contenuto dei flaconi con il volume di acqua deionizzata riportato sull'etichetta di ciascun flacone. I calibratori ricostituiti possono essere conservati a 2-8 °C per un massimo di tre settimane o ad almeno -20 °C fino alla data di scadenza del kit.

I calibratori sono calibrati contro lo standard interno.

Controlli: due flaconi (1, 2) (liofilizzati)

I flaconi contengono androstenedione in siero umano con sodio azide (<0,1%). I valori attesi sono riportati sul foglio del controllo di qualità. Ricostituire il contenuto dei flaconi con il volume di acqua deionizzata riportato sull'etichetta di ciascun flacone. Gli controlli ricostituiti possono essere conservati a 2-8 °C per un massimo di tre settimane o ad almeno -20 °C 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).
- Acqua deionizzata.
- pipette semi-automatiche (500 µL).
- Bagnomaria con range di temperatura 37 ± 2 °C
- Rack o dispositivo simile per la decantazione
- materiale assorbente per tamponare le provette
- Contatore gamma programmato per leggere ¹²⁵I.

RISULTATI

Le concentrazioni di androstenedione nei campioni e controlli vengono calcolate per interpolazione sulla curva standard. Campioni e controlli devono essere dosati insieme ai calibratori.

Curva standard

I risultati del reparto di controllo qualità sono stati calcolati utilizzando l'adattamento della curva secondo il metodo *la regressione cubica ponderata* con B/T o B/B_0 sull'asse verticale logit e la concentrazione di analiti nei calibratori sull'asse orizzontale logaritmico (ng/mL).

$ED_{50} = 1,23$ ng/mL.

Altri metodi di interpolazione dati possono dare risultati leggermente differenti.

Attività totale: 62.710 cpm				
Calibratori	Andro. (ng/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	23.317	37,2	100
1	0,13	20.425	32,6	87,6
2	0,31	17.375	27,7	74,5
3	1,00	12.542	20,0	53,8
4	3,00	8.284	13,2	35,5
5	10,5	4.498	7,2	19,3

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

Campioni

Calcolare B/T o B/B₀ per ogni campione, riportarlo sull'asse delle ordinate e leggere le concentrazioni corrispondenti sull'asse delle ascisse. Fattore di conversione per passare da ng/mL a nmol/L: moltiplicare i risultati per 3,49.

VALORI ATTESI

Ogni laboratorio deve stabilire i propri intervalli attesi di androstenedione. La tabella seguente illustra i risultati di studi sugli intervalli di normalità, condotti da un laboratorio indipendente.

Popolazione	N	Media	Range atteso	2,5-97,5 percentil
		(ng/mL)		
Uomini	132	1,15	0,62 - 3,12	0,64 - 2,97
Donne	99	1,09	0,24 - 3,44	0,35 - 2,78
Donne postmenopausali	50	0,86	0,22 - 2,24	0,30 - 2,07

(Ulteriori dati sono riportati in appendice)

CONTROLLO 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.

In caso il kit fosse danneggiato o i dati ottenuti mostrino un'alterazione della performance, si prega di contattare il distributore locale o di scrivere all'indirizzo e-mail seguente: imunochem@beckman.com

PROCEDURA

Preparazione dei reattivi

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

Ricostituzione degli calibratori e dei controlli

Ricostituire il contenuto dei flaconi con il volume di acqua deionizzata riportato sull'etichetta di ciascun flacone. Lasciar riposare per almeno 10 minuti e controllare la completa dissoluzione del liofilizzato invertendo più volte i flaconi.

Schema del dosaggio

Prima dell'uso lasciare equilibrare i reattivi a temperatura ambiente.

Fase 1 Dispensazione*	Fase 2 Incubazione	Fase 3 Conteggio
Aggiungere in successione alle provette sensibilizzate: 50 µL di calibratori, controlli o campioni, immediatamente 500 µL di marcato. Mescolare agitando energicamente, a mano, il portaprovette.	Incubare 60 min a 37 °C in bagno termostato	Aspirare o fare decantare, eccetto provette per le conte totali, capovolgendo contemporaneamente il rack di decantazione in un recipiente per rifiuti radioattivi. Lasciar svuotare su materiale assorbente per 2 minuti e tamponare delicatamente sul bordo. Contare la radioattività legata (B) e l'attività totale (T) per 1 min.

*Aggiungere 500 µL di marcato a 2 provette per il conteggio dell'attività totale.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

(Ulteriori dati sono riportati in appendice)

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

Sensibilità

Sensibilità analitica: 0,05 ng/mL

Sensibilità funzionale: 0,09 ng/mL

Specificità

L'anticorpo utilizzato nel dosaggio è altamente specifico per l'androstenedione. Cross-reazioni molto basse sono state trovate per alcune molecole correlate (Androsterone, 17-idrossiprogesterone, Cortisone etc.).

Precisione

Intra-saggio

Alcuni campioni di siero sono stati analizzati 25 volte in uno stesso esperimento. Per i campioni di siero è stato trovato un coefficiente di variazione del 7,5% o inferiore.

Inter-saggio

Alcuni campioni di siero sono stati analizzati in duplicato in 10 esperimenti differenti. Per i campioni di siero è stato trovato un coefficiente di variazione del 11,3% o inferiore.

Accuratezza

Test di diluizione

Alcuni campioni di siero ad alta concentrazione di androstenedione sono stati diluiti con diluizioni seriali con il calibratore zero. Il recupero è risultato essere compreso tra 81,6% e 99,4%.

Test di recupero

Ad alcuni campioni di siero a bassa concentrazione di androstenedione sono state aggiunte quantità note di androstenedione. Il recupero è risultato essere compreso tra 93,0% e 111%.

Campo di misura (è compreso tra la concentrazione corrispondente alla sensibilità analitica e la concentrazione del calibratore a concentrazione più alta): 0,05 e circa 10,0 ng/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.

- Non usare campioni emolizzati, itterici o lipemici.
- 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 Androstenedione RIA

REF DSL3800

RADIOINMUNOENSAYO PARA LA DETERMINACION CUANTITATIVA DE ANDROSTENEDIONA EN SUERO Y PLASMA HUMANOS ESTE ENSAYO ES PARA DIAGNÓSTICO USO "IN VITRO"

PRINCIPIO

El radioinmunoanálisis del active-Androstenediona (ASD, 4-androstene-3,17-diona), es un análisis competitivo. El procedimiento sigue el principio básico del radioinmunoensayo, que consiste en la competición entre un antígeno radiactivo y otro no radiactivo por un número fijo de sitios de unión a anticuerpos. La cantidad de androstenediona marcado con ^{125}I unida al anticuerpo es inversamente proporcional a la concentración de androstenediona sin marcar presente en la muestra [1]. La separación del antígeno libre del unido se logra con un simple aspirado y/o decantación de los tubos recubiertos. A continuación, se prepara la curva estándar y los valores de las muestras desconocidas se obtienen por 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.

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

RECOLECCIÓN, PROCESAMIENTO, ALMACENAMIENTO Y DILUCION DE LAS MUESTRAS

- Se recomienda el uso tanto de muestrás séricas como plasmáticas EDTA.
- Permitir que las muestras de suero se coagulen completamente antes de su centrifugado.
- Las muestras de orina pueden almacenarse a 2-8 °C si el análisis se realiza en las 24 horas, sino es preferible conservarlas congeladas, preferentemente en alícuotas (<-18 °C, 1 año máximo) con el fin de evitar congelaciones y descongelaciones sucesivas. La descongelación de las muestras debe realizarse a temperatura ambiente.
- Toda muestra congelada debe ser descongelada y mezclada completamente, ya sea removiéndola suavemente o mediante inversión suave, antes de su uso.
- Toda muestra cuyo resultado sea mayor que el calibrador más alto debe ser cuidadosamente diluida dos veces con el calibrador 0 ng/mL y ser procesada nuevamente. Una dilución posterior puede provocar resultados erróneos.

Se compararon los valores en suero y plasma con EDTA de 20 muestras (valores séricos de 0.50 a 2,07 ng/mL) usando el equipo DSL3800 ANDROSTENEDIONE RIA. Los resultados fueron los siguientes:

$$[\text{plasma}] = 1.03 [\text{suero}] - 0.03$$

$$R = 0.9758$$

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 almacenaje para los reactivos una vez abiertos, se indican en los párrafos respectivos.

Tubos recubiertos de anticuerpos Anti-Androstenediona: 2 x 50 tubos (listos para usar)

Tubos de plástico con inmunoglobulina de conejo anti-androstenediona inmovilizada a la pared interna de cada tubo.

Trazador androstenediona marcado con ^{125}I : 1 frasco x 55 mL (listo para usar)

El frasco contiene 185 kBq (<5 μCi), en la fecha de fabricación, de androstenediona marcado con ^{125}I en buffer proteico y azida sódica (<0,1 %).

Calibradores: 1 frasco (rotulado 0) + 5 frascos (rotulados 1 – 5) (liofilizados)

Los frascos contienen desde 0 hasta aproximadamente 10,0 ng/mL (desde 0 hasta aproximadamente 34,9 nmol/L) de androstene-diona en suero humano con azida sódica (<0,1 %). La concentración exacta se indica en cada etiqueta. Reconstituir el contenido de los frascos con el volumen de agua deionizada indicado en la etiqueta. Los calibradores reconstituídos pueden conservarse entre 2-8 °C durante un periodo máximo de tres semanas o congelarse a una temperatura ≤ -20 °C, hasta la fecha de vencimiento del equipo.

Los valores de los calibradores se encuentran validados frente a un estándar de referencia interno.

Controles: 2 frascos, (rotulados 1, 2) (liofilizados)

Los frascos contienen androstenediona en suero humano con azida sódica (<0,1 %). La concentración exacta se indica en la hoja anexa. Reconstituir el contenido de los frascos con el volumen de agua deionizada señalado en la etiqueta. Los controles reconstituídos pueden conservarse entre 2-8 °C

durante un período máximo de tres semanas o congelarse a una temperatura ≤ -20 °C, hasta la fecha de vencimiento del equipo.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

Además del equipo normal de laboratorio se requiere lo siguiente:

- Tubos de ensayo de plástico o vidrio de 12 x 75 mm para cuentas totales,
- Gradilla para tubos de ensayo de 12 x 75 mm
- Micropipeta de precisión (50 μ L).
- Agua desionizada.
- Pipeta semiautomática (500 μ L).
- Baño termostático que regule a 37 ± 2 °C
- Gradilla - absorbente - para decantación o dispositivo similar,
- Material absorbente para secado de los tubos
- Contador gamma calibrado para I125.

RESULTADOS

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

Curva estándar

Los resultados en el departamento de control de calidad fueron calculados usando el ajuste de curva *regresión cúbica ponderada* con B/T o B/B_0 en el eje logit vertical y la concentración de analitos de los calibradores en el eje logarítmico horizontal (ng/mL).

$ED_{50} = 1,23$ ng/mL.

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

Actividad total: 62 710 cpm				
Calibradores	Andro. (ng/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	23 317	37,2	100
1	0,13	20 425	32,6	87,6
2	0,31	17 375	27,7	74,5
3	1,00	12 542	20,0	53,8
4	3,00	8284	13,2	35,5
5	10,5	4498	7,2	19,3

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

Muestras

Para cada muestra marcar sobre el eje vertical el valor de B/T ó el de B/B_0 y sobre el eje horizontal, interpolar la correspondiente concentración de la Androstenediona de las muestras en ng/mL. Para convertir de ng/mL a nmol/L, multiplicar los resultados por 3.49.

VALORES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia. A continuación se informan los resultados obtenidos, dentro del rango normal, por un laboratorio independiente, y se proveen solamente como referencia.

Población	N	Mediana	Rango esperado	2.5 - 97.5 percentile
			(ng/mL)	
Varones	132	1,15	0,62 - 3,12	0,64 - 2,97
Mujeres	99	1,09	0,24 - 3,44	0,35 - 2,78
Mujeres posmenopáusicas	50	0,86	0,22 - 2,24	0,30 - 2,07

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

CONTROL DE CALIDAD

Las buenas prácticas de los laboratorios implica que las muestras controles sean utilizadas en cada serie de ensayos 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. Se recomienda que dichos resultados sean analizados utilizando métodos

estadísticos apropiados. No obtener valores apropiados para los controles puede indicar que la manipulación ha sido imprecisa, que la muestra no se ha manejado de forma adecuada o que los reactivos se han deteriorado.

En caso de detectar un deterioro en el emvasado del producto ó que los resultados expresen una alteración en las características del mismo, contactar con el Distribuidor local ó notificar a la dirección de e-mail: imunochem@beckman.com

PROCEDIMIENTO

Preparación de los reactivos

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

Reconstitución de los calibradores y controles

Reconstituir el contenido de los frascos con el volumen de agua deionizada indicado en la etiqueta. Una vez reconstituido, espere 10 minutos y agite suavemente- evitando la formación de espuma- antes de su uso.

Procedimiento del ensayo

Permitir que los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de su uso.

Paso 1 Adiciones*	Paso 2 Incubación	Paso 3 Contaje
<p>Agregue en el fondo de los tubos rotulados lo siguiente:</p> <p>50 μL de calibradores, controles ó muestras, e inmediatamente después</p> <p>500 μL de trazador.</p> <p>Agite el rack vigorosamente con la mano.</p>	<p>Incubar 60 min a 37 °C en el baño de agua</p>	<p>Aspire ó 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.</p> <p>Drene el resto del contenido sobre material absorbente durante 2 minutos, para luego secar suavemente el interior de los tubos.</p> <p>Determine con un contador gamma, las cpm unidas (B) y las cpm totales (T) durante 1 min.</p>

*Agregar 500 μ L de trazador a 2 tubos adicionales para obtener así las cpm totales (T).

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

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

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

Sensibilidad

Sensibilidad Analítica: 0,05 ng/mL

Sensibilidad funcional: 0,09 ng/mL

Especificidad

El anticuerpo utilizado en este inmunoensayo es altamente específico para la Androstenediona, presentando niveles extremadamente bajos de reacción cruzada con otras moléculas relacionadas (androsterona, 17-Hidroxiprogesterona, cortisona etc.)

Precisión

Intra- ensayo

Las muestras séricas se evaluaron 25 veces en las mismas series. Los coeficientes de variación fueron $\leq 7,5$ %.

Inter-análisis

Las muestras séricas se evaluaron en duplicado en 10 series diferentes. Los coeficientes de variación fueron $\leq 11,3$ %.

Precisión

Prueba de dilución

Las muestras séricas muy concentradas se diluyeron seriamente con el calibrador cero. Los porcentajes de recuperación obtenidos fueron entre 81,6 % y 99,4 %.

Prueba de recuperación

Las muestras séricas de baja concentración se regularon con cantidades conocidas de androstenediona. Los porcentajes de recuperación obtenidos fueron entre 93,0 % y 113 %.

Rango de medida (desde la sensibilidad analítica hasta el calibrador más alto): desde 0.05 hasta aproximadamente 10,0 ng/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.
 - No utilice muestras hemolizadas, ictéricas o lipémicas.
 - 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 Androstenedione RIA

REF DSL3800

RADIOIMUNOENSAIO PARA DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE ANDROSTENEDIONA HUMANA EM SORO OU PLASMA ESTE ENSAIO É DESENVOLVIDO PARA DIAGNÓSTICO 'IN VITRO'

PRINCÍPIO

O radioimunoensaio de androstenediona (ASD, 4-Androstene-3,17-diona) é um ensaio competitivo. O procedimento segue o princípio básico de radioimunoensaio, onde existe uma competição entre um antígeno radioativo e de um não-radioativo por um número fixo de sítios de ligação no anticorpo. A quantidade de androstenediona marcada-[125I] ligada ao anticorpo é inversamente proporcional à concentração de androstenediona não marcada presente [1]. A separação do antígeno livre e ligado é obtida por decantação ou aspiração dos tubos revestidos de anticorpos. Uma curva padrão é construída e os valores de androstenediona 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 Controlos 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.

Material de origem humana

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 DO GHS

Não classificado como perigoso

PI-DSL3800-02

SDS

A Ficha de dados de segurança está disponível em techdocs.beckmancoulter.com

COLHEITA, PROCESSAMENTO, ARMAZENAMENTO, E DILUIÇÃO DAS AMOSTRAS

- Colete em tubos contendo EDTA ou sem aditivos. Soro ou plasma é recomendado como amostra.
- Deixar as amostras de soro coagularem completamente antes da centrifugação.
- As amostras podem ser armazenadas de 2-8 °C, se o ensaio for realizado dentro de 24 horas. Para longos períodos de armazenamento mantenha congelado a <-20 °C, máximo de 1 ano. É recomendado preparar aliquotas a fim de evitar repetidos ciclos de descongelamento. Descongelação da amostra deve ser realizada à temperatura ambiente.
- Amostras congeladas devem ser descongeladas e bem homogeneizadas por suave inversão ou rotação antes do uso.
- Qualquer amostra com leituras acima da concentração do calibrador mais alto deve ser diluída apropriadamente com o calibrador 0 ng/mL e ensaiada novamente.

Valores de soro e EDTA-plasma para 20 amostras (amostras de soro na faixa de 0.50 a 2,07 ng/mL) foram comparadas usando o kit DSL3800 Androstenedione RIA. Os resultados são os seguintes:

[plasma] = 1.03 [soro] - 0.03

R = 0.9758

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 após abertos estão indicadas nos parágrafos apropriados.

Tubos revestido com anticorpos Anti-Androstenediona: 2 x 50 tubos (pronto para uso)

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

Traçador Androstenediona marcada com I¹²⁵: um frasco 55 mL (pronto para uso)

O frasco contém, na data de fabricação, 185 kBq (<5 µCi) de androstenediona marcada com [125I] em tampão com proteínas e azida sódica (<0,1%).

Calibradores: um frasco identificado como 0 e cinco frascos identificados de 1-5 (liofilizados)

Os frascos de calibradores contêm de 0 a, aproximadamente 10,0 ng/mL (0 a, aproximadamente 34,9 nmol/L) de androstenediona em soro humano com azida sódica (<0,1%). Os valores exatos das concentrações estão indicados nos rótulos dos frascos. Reconstitua cada calibrador com o volume de água deionizada destilada indicado na etiqueta do frasco. Após reconstituição, armazenar 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 um padrão interno.

Controlos: dois frascos identificados 1,2 (liofilizados)

Os frascos contêm androstenediona em soro humano com azida sódica (<0,1%). Os valores esperados estão indicados no suplemento encontrado no kit. Reconstitua cada calibrador com o volume de água deionizada indicada na etiqueta do frasco. Após reconstituição, armazenar 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 plástico ou vidro de 12 x 75 mm para Contagem Total
- Suporte para tubos 12 x 75 mm.
- Micropipetas de Precisão (50 µL).

- Água desionizada.
- Pipeta semi-automática (500 µL).
- Banho-maria de 37 °C ± 2 °C.
- Suporte em espuma para decantação ou dispositivo similar.
- Material absorvente para secagem dos tubos.
- Contador Gamma ajustado para iodo 125.

RESULTADOS

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

Curva Padrão

Os resultados no departamento de controle de qualidade foram calculados utilizando um ajuste de curva de *regressão cúbica ponderada* com B/T ou B/B_0 no eixo vertical da função logit e concentração de analito dos calibradores no eixo horizontal logarítmico (ng/mL).

$ED_{50} = 1,23 \text{ ng/mL}$.

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

Atividade total: 62 710 cpm				
Calibradores	Andro. (ng/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	23 317	37,2	100
1	0,13	20 425	32,6	87,6
2	0,31	17 375	27,7	74,5
3	1,00	12 542	20,0	53,8
4	3,00	8284	13,2	35,5
5	10,5	4498	7,2	19,3

(Exemplo de curva padrão, não utilize para cálculo)

Amostras

Para cada amostra estabeleça a relação B/T ou B/B₀ no eixo vertical da curva padrão e leia a concentração correspondente de androstenediona nas amostras no eixo horizontal em ng/mL. Para conversão de concentrações em ng/mL para nmol/L, multiplique o resultado por 3.49.

VALORES ESPERADOS

Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores de normalidade. Resultados no intervalo normal em um estudo conduzido por um laboratório independente estão relacionados abaixo e são fornecidos apenas como referência.

População	N	Mediana	Gama de valores	Percentile 2.5 - 97.5
		(ng/mL)		
Indivíduos do sexo masculino	132	1,15	0,62 - 3,12	0,64 - 2,97
Mulheres	99	1,09	0,24 - 3,44	0,35 - 2,78
Mulheres na pós-menopausa	50	0,86	0,22 - 2,24	0,30 - 2,07

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

CONTROLO DE QUALIDADE

As boas práticas de laboratório implicam que o controle das amostras sejam corridos regularmente para garantir a qualidade dos resultados obtidos. Estes controles devem ser processados exatamente da mesma maneira das 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 alguma alteração de performance, por favor contacte o distribuidor local ou utilize o seguinte endereço de e-mail: imunochem@beckman.com.

PROCEDIMENTO

Preparação dos Reagentes

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

Reconstituição de calibradores e controlo

Reconstituir os frascos com o volume de água deionizada indicado no rótulo. Aguarde 10 min após a reconstituição, e homogeneíze suavemente a fim de evitar espuma antes de pipetar.

Procedimento de Ensaio

Deixe todos os reagentes atingirem a temperatura ambiente antes da pipetagem.

Passo 1 Pipetagens*	Passo 2 Incubação	Passo 3 Contagem
Nos tubos revestidos adicione sucessivamente: 50 µL de calibrador, controles ou amostras, imediatamente adicione 500 µL do marcador. Homogeneíze a estante vigorosamente com as mãos	Incubar 60 min em banho-maria a 37±2 °C.	Aspire ou decante os tubos, (excepto « cpm total » tubos de contagem total), por inversão do suporte de espuma directamente no recipiente de eliminação de resíduos radioactivos. Inverta os tubos, deixe secar sob papel absorvente por >2 minutos e bata os tubos suavemente. Conte a cpm ligada (B) e a cpm total (T) por 1 minuto.

*Adicione 500 µL do marcador a 2 tubos adicionais para obter «cpm total».

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

Sensibilidade analítica: 0,05 ng/mL

Sensibilidade funcional: 0,09 ng/mL

Especificidade

O anticorpo utilizado no imunoensaio é altamente específico para androstenediona. Reatividades cruzadas baixas (<1%) foram obtidas com diversas moléculas relacionadas (Androsterona, 17-OH progesterona, Cortisona, etc).

Precisão

Intra-ensaio

Amostras de soro foram ensaiadas 25 vezes no mesmo ensaio. Os coeficientes de variação foram ≤7,5%.

Inter-ensaio

Amostras de soro foram ensaiadas em duplicata em 10 corridas diferentes. Os coeficientes de variação foram ≤11,3%.

Exactidão

Teste de Diluição

Amostras de soro altamente concentradas foram diluídas seriadamente com o calibrador zero. A percentagem de recuperação obtida variou entre 81,6% a 99,4%.

Teste de Recuperação

Amostras de soro com baixas concentrações foram inoculadas com quantidades conhecidas de androstenediona. A percentagem de recuperação obtida variou entre 93,0% a 111%.

Intervalo de Dosagem (da sensibilidade analítica ao calibrador mais alto) 0.05 a, aproximadamente 10,0 ng/mL.

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 errôneos.

- 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.
- Não use amostras intensamente lipêmicas, ictericas ou hemolizadas.
- 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 imunoenaios. Tais anticorpos interferentes podem causar resultados errôneos. Cos resultados destes doentes devem ser avaliados com cuidado.

ACTIVE Androstenedione RIA

REF DSL3800

RADIOIMMUNASSAYKIT TIL KVANTITATIV BESTEMMELSE AF ANDROSTENDION I HUMANT SERUM ELLER PLASMA. DETTE ASSAY ER BEREGNET TIL IN VITRO-DIAGNOSTISK BRUG.

PRINCIP

Radioimmunassayet til bestemmelse af androstendion (ASD, 4-androsten-3,17-dion) er et kompetitivt assay. Proceduren er baseret på grundprincippet for et radioimmunassay, hvor der er konkurrence mellem et radioaktivt og et ikke-radioaktivt antigen om et fast antal antistofbindingssteder. Den mængde [¹²⁵I]-mærket androstendion, som bindes til antistoffet, er omvendt proportional med den tilstedeværende koncentration af umærket androstendion [1]. Det frie og det bundne antigen separeres ved at dekantere eller opsuge indholdet af de antistofbelagte rør. Der fastlægges en standardkurve, og ukendte androstendionværdier bestemmes ved interpolation ud fra kurven.

Sammendrag og uddybende beskrivelse af assayet kan findes i "APPENDIKS".

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

Generelle bemærkninger:

- Til *in vitro* diagnostisk brug.
- Flaskerne med kalibrаторer og controller bør være åbne så kort tid som muligt for at undgå overdreven fordampning.
- Reagenser fra kit fra forskellige lot må ikke blandes.
- Anvend ikke en komponent efter udløbsdatoen.
- Der skal fastsættes en standardkurve for hver analyse.
- Det anbefales at udføre assayen som dobbeltbestemmelse.
- Kalibrаторer og controller skal blandes før brugen ved omvendning eller forsigtig omhvirvling snarere end med vortexblender.

Grundlæggende regler for strålingssikkerhed

Der må ikke spises, drikkes, ryges eller påføres kosmetik i lokaler, hvor der arbejdes med radioaktive materialer.

- Der må hverken spises, drikkes, ryges eller bruges kosmetik på steder, hvor der findes radioaktive materialer.
- Der må ikke mundpipetteres.
- Undgå enhver kontakt med radioaktive materialer ved at bruge handsker og kittel.
- Enhver manipulation af radioaktive stoffer skal ske på et dertil egnet sted og ikke i gangområder eller andre travle steder.
- Radioaktive materialer skal opbevares i den medfølgende beholder og på et dertil egnet sted.
- Der skal føres register over modtagelse og opbevaring af alle radioaktive produkter, og registret skal holdes opdateret.
- Laboratorieudstyr og glasartikler, der udsættes for kontamination, skal holdes adskilt fra hinanden for at undgå krydskontaminering af forskellige radioisotoper.
- Ethvert tilfælde af radioaktiv kontamination eller tab af radioaktivt materiale skal løses i overensstemmelse med de etablerede procedurer.
- Radioaktivt affald skal håndteres i overensstemmelse med de i brugsløbet gældende regler.

Materiale af human oprindelse

Patientprøver og blodafledte produkter kan bearbejdes rutinemæssigt med minimal risiko ved brug af den beskrevne procedure. Disse produkter skal dog håndteres som værende smittefarlige i henhold til universale forholdsregler og god klinisk laboratoriepraksis, uanset deres oprindelse, behandling eller tidligere certificering. Brug et egnet desinfektionsmiddel til dekontaminering. Disse materialer og deres beholdere skal opbevares og kasseres i henhold til lokale love og retningslinier.

GHS FAREKLASSIFIKATION

Ikke klassificeret som farlig.

SDS

Sikkerhedsdatablad fås på techdocs.beckmancoulter.com

INDSAMLING, BEHANDLING, OPBEVARING OG FORTYNDING AF PRØVER

- Serum eller plasma (EDTA) er anbefalede prøvetyper.
- Lad serumprøver koagulere helt før centrifugering.
- Prøverne kan opbevares ved 2-8 °C, hvis assayet skal udføres inden for 24 timer. Ved længere opbevaring skal prøverne holdes nedfrosne ved <-20 °C. Det anbefales at opdele dem i alikvoter, således at gentaget nedfrysning og optøning kan undgås.
- Nedfrosne prøver skal optøs og blandes grundigt ved at ryste dem let eller forsigtigt vende dem på hovedet inden brug.
- Alle prøver, hvis aflæste koncentration ligger over den højeste kalibratorkoncentration, skal fortyndes i passende omfang med kalibratoren med koncentrationen 0 ng/mL og genanalyseres

Serum and EDTA plasma resultater for 20 prøver (serum resultater imellem 0.50 til 2,07 ng/mL) er sammenlignet med DSL3800 Androstenedione RIA kit. Resultaterne er følgende:

[EDTA-plasma] = 1.03 [serum] - 0.03

R = 0.9758

LEVEREDE MATERIALER

Alle uåbnede reagenser i kittet er stabile indtil udløbsdatoen, der er angivet på mærkaten på kittet, når de opbevares ved 2-8 °C. De udløbsdatoer, som er trykt på mærkaterne på hætteglassene, gælder kun under langtidsofopbevaring af komponenter hos producenten.

Opbevaringsbetingelser for åbnede reagenser er angivet i de relevante afsnit.

Rør, som er belagt med anti-androstendion: 2 x 50 rør (klar til brug)

Plastrør med kanin-anti-androstendion-immunglobulin, der er immobiliseret på hvert rørs inderside.

¹²⁵I-mærket androstendiontracer: ét 55 mL-hætteglas (klar til brug)

Hætteglasset indeholder 185 kBq (<5 µCi) på fremstillingsdatoen af ¹²⁵I-mærket androstendion i buffer med proteiner og natriumazid (<0,1%).

Kalibrаторer: ét 1 mL-hætteglas mærket 0 og fem 0,5 mL hætteglas mærket 1-5 (lyofiliseret)

Kalibrаторhætteglassene indeholder fra 0 til 10,0 ng/mL (fra 0 til 34,9 nmol/L) androstendion i humant serum med natriumazid (<0,1%). Den nøjagtige koncentration er angivet på mærkaten på hvert hætteglas. Volumen til rekonstitution er angivet på hætteglassets etiket. De rekonstituerede kalibrаторer kan opbevares ved 2-8 °C i op til 3 uger eller ved <-20 °C indtil kittets udløbsdato.

Kalibrатор er kalibreret til den interne standard.

Kontroller: to 0,5 mL hætteglas mærket 1, 2 (lyofiliseret)

Hætteglassene indeholder androstendion i humant serum med natriumazid (<0,1%). De forventede værdier er angivet i et tillæg, som findes i kittet. Volumen til rekonstitution er angivet på hætteglassets etiket. De rekonstituerede kontroller kan opbevares ved 2-8 °C i op til 3 uger eller ved <-20 °C indtil kittets udløbsdato.

MATERIALER PÅKRÆVET, MEN IKKE LEVERET

Ud over almindeligt laboratorieudstyr skal følgende bruges:

- 12 x 75 mm-plast- eller glasprøverør til bestemmelse af total aktivitet
- Prøverørstativ til 12 x 75 mm-rør
- Præcisionsmikropipette (50 µL)
- Deioniseret vand.
- Halvautomatisk pipette (500 µL)
- Vandbad, 37 ± 2 °C
- Svampestativ eller tilsvarende enhed til dekantering
- Materiale til absorption af restvæske i prøverørene
- Gammataeller til ¹²⁵I

RESULTATER

Resultaterne opnås ved interpolation ud fra standardkurven. Kurven anvendes til bestemmelse af androstendionkoncentrationer i prøver, som er målt samtidig med kalibratorerne.

Standardkurve

Resultaterne i kvalitetskontrolafdelingen blev beregnet ved hjælp af vægtes kubisk regression-kurvetilpasning med B/T eller B/B_0 på den logit-vertikale akse og analytkoncentrationen for kalibratorerne på den logaritmiske horisontale akse (ng/mL).

$ED_{50} = 1,23$ ng/mL.

Andre datareduktionsmetoder kan give lidt anderledes resultater.

Total aktivitet: 62 710 cpm				
Kalibratorer	Andro. (ng/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	23 317	37,2	100
1	0,13	20 425	32,6	87,6
2	0,31	17 375	27,7	74,5
3	1,00	12 542	20,0	53,8
4	3,00	8284	13,2	35,5
5	10,5	4498	7,2	19,3

(Eksempel på standardkurve; må ikke bruges til beregning)

Prøver

For hver prøve findes forholdet B/T eller B/B_0 på den lodrette akse på standardkurveafbildningen, hvorefter den dertil svarende androstendionkoncentration (i ng/mL) aflæses på den vandrette akse. Koncentrationsresultater i ng/mL kan konverteres til nmol/L ved at multiplicere dem med 3,49.

FORVENTEDE VÆRDIER

Det anbefales, at hvert laboratorium fastlægger sine egne referenceintervaller. Nedenstående tabel viser resultater for en normalintervallundersøgelse udført af et uafhængigt laboratorium. De angivne resultater er kun medtaget som reference.

Population	N	Gennemsnit	Min-Maks	2,5. - 97,5. percentil
				(ng/mL)
Mænd	132	1,15	0,62 - 3,12	0,64 - 2,97
Kvinder	99	1,09	0,24 - 3,44	0,35 - 2,78
Postmenopausale kvinder	50	0,86	0,22 - 2,24	0,30 - 2,07

(se "APPENDIKS" for yderligere detaljer)

KVALITETSKONTROL

God laboratoriepraksis indebærer, at der regelmæssigt måles på kontrolprøver for at sikre kvaliteten af de opnåede resultater. Disse kontrolprøver skal behandles på nøjagtig samme måde som patientprøverne, og det anbefales, at resultaterne for kontrolprøverne analyseres ved brug af passende statistiske metoder. Hvis der ikke opnås korrekte værdier for kontrolprøver, kan det være tegn på upræcis behandling, forkert prøvebehandling eller ødelæggelse af reagenserne.

I tilfælde af emballagebeskadigelse eller hvis de opnåede data tyder på, at ydeevnen er ændret, bedes du kontakte den lokale forhandler eller skrive til følgende e-mail-adresse: imunochem@beckman.com

PROCEDURE

Klargøring af reagenser

Bring alle reagenser til stuetemperatur, og bland dem grundigt ved forsigtigt at vende dem på hovedet inden brug.

Rekonstituering af kalibratorer og kontrolprøve

Rekonstituer hætteglassenes indhold med den mængde deioniseret vand, der er angivet på deres mærkat. Vent i 10 min. efter rekonstituering, og bland forsigtigt inden brug, så der undgås skumdannelse.

Assayproceduren

Alle reagenser skal have rumtemperatur før pipettering.

Trin 1 Tilsætninger*	Trin 2 inkubation	Trin 3 Måling
Tilsæt i nævnte rækkefølge følgende til antistofbelagte rør: 50 µL kalibrator, kontrol eller prøve. Tilsæt straks derefter 500 µL tracer. Bland indholdet i alle rørene i stativet kraftigt med håndkraft.	Inkuber i 60 min i et vandbad ved 37 ± 2 °C.	Rørene er placeret i et svampestativ. Opsug indholdet af rørene eller dekanter det (bortset fra rørene for «total cpm») ved at vende stativet, så alle rørene vendes på hovedet samtidig, mens stativet holdes over en beholder til radioaktivt affald. Slå hårdt på rørene og lad indholdet løbe ned på og blive opsugt i absorberende materiale i >2 min og fjern så forsigtigt restvæsken fra rørene. Bestem bundet cpm (B) og total cpm (T) i 1 min.

*Tilsæt 500 µL tracer til 2 yderligere rør til bestemmelse af «total cpm».

PRÆSTATIONSKARAKTERISTIKA

(se "APPENDIKS" for yderligere detaljer)

Repræsentative data er udelukkende til illustrationsmæssige formål. Præstationsresultater kan variere afhængig af de individuelle laboratorier.

Følsomhed

Den analytisk sensitivitet er 0,05 ng/mL.

Den funktionel sensitivitet er 0,09 ng/mL.

Specificitet

Det antistof, der anvendes i immunassayet, er meget specifikt for androstendion. Der er opnået lave (<1%) krydsreaktiviteter med flere beslægtede molekyler (androsteron, 17-OH-progesteron, kortison osv.).

Præcision

Inden for samme analyse

Serumprøverne blev analyseret 25 gange i samme kørsel. Variationskoefficienterne var $\leq 7,5\%$.

Mellem analyser

Serumprøverne blev analyseret med dobbeltbestemmelse i 10 forskellige kørsler. Variationskoefficienterne var $\leq 11,3\%$.

Nøjagtighed

Fortyndingstest

Højkoncentrerede serumprøver blev fortyndet serielt med nulkalibrator. De opnåede genfindingsprocenter lå mellem 81,6% og 99,4%.

Genfindingstest

Lavkoncentrerede serumprøver blev tilsat kendte mængder af androstendion. De opnåede genfindingsprocenter lå mellem 93,0% og 111%.

Måleinterval (fra analytisk sensitivitet til den højeste kalibrator): 0,05 -10,0 ng/mL.

BEGRÆNSNINGER

- Manglende overholdelse af denne brugsanvisning kan påvirke resultaterne væsentligt.
- Hvis fjernelsen af restvæske fra prøverørene efter dekantering er utilstrækkelig, kan det medføre dårlig overensstemmelse ved testgentagelse og forkerte værdier.
- Resultaterne skal fortolkes under hensyntagen til det samlede kliniske billede af patienten, herunder klinisk historie, data fra yderligere test og andre relevante oplysninger.
- Undgå gentagen nedfrysning og optøning af reagenser eller prøver.
- Brug ikke hæmolyserede, ikteriske eller lipæmiske prøver.

- Der er risiko for interferens fra heterofile antistoffer i patientprøven. Patienter, som regelmæssigt har været eksponeret for dyr eller modtaget immunterapi eller gennemgået diagnostiske procedurer med brug af immunglobuliner eller immunglobulinfragmenter, kan producere antistoffer, f.eks. HAMA, som interfererer med immunassays. Sådanne interfererende antistoffer kan forårsage

fejlagtige resultater. Foretag derfor en omhyggelig vurdering af resultater fra patienterne ved formodning om tilstedeværelse af disse antistoffer.



Ανάλυση RIA ανδροστενεδιόνης ACTIVE

REF DSL3800

ΑΝΟΣΟΡΑΔΙΟΜΕΤΡΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΣΟΤΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΑΝΔΡΟΣΤΕΝΕΔΙΟΝΗΣ ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΟ ΚΑΙ ΠΛΑΣΜΑ
Ο ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΥΤΟΣ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ IN VITRO.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Η διαδικασία ακολουθεί τη βασική αρχή του ανοσολογικού προσδιορισμού όπου υπάρχει ανταγωνισμός μεταξύ ενός ραδιενεργού και ενός μη ραδιενεργού αντιγόνου για έναν καθορισμένο αριθμό θέσεων δέσμευσης αντισωμάτων. Η ποσότητα της σημασμένης με [¹²⁵I] ανδροστενεδιόνης που είναι δεσμευμένη στο αντίσωμα είναι αντιστρόφως ανάλογη προς τη συγκέντρωση της υπάρχουσας ανδροστενεδιόνης [1]. Ο διαχωρισμός ελεύθερου και δεσμευμένου αντιγόνου επιτυγχάνεται μέσω μεταάγγισης ή αναρρόφησης των επιστρωμένων με αντίσωμα σωληναρίων.

Βλέπε τη σελίδα "APPENDIX" Περιληψη και επεξηγηση της εξετασης

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Γενικές παρατηρήσεις:

- Για διαγνωστική χρήση *in vitro*.
- 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 παρούσα 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.

Υλικό ανθρώπινης προέλευσης

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

ΣΥΛΛΟΓΗ, ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ, ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΑΡΑΙΩΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- Θα πρέπει να χρησιμοποιείται ορός ή πλάσμα (EDTA) και θα πρέπει να τηρούνται οι συνθήκες προφυλάξεις για φλεβοπαρακέντηση.
- Αφήστε τα δείγματα ορού να πήξουν εντελώς πριν τη φυγοκέντρωση.
- Τα δείγματα ούρων μπορούν να διατηρηθούν στους 2-8 °C, αν η εξέταση πρόκειται να γίνει σε 24 ώρες. Για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα, είναι προτιμότερο να διατηρούνται στην κατάψυξη (<-18 °C, για 1 χρόνο) και κατά προτίμηση χωρισμένα σε μικρότερες ποσότητες, ώστε να αποφεύγεται η επαναλαμβανόμενη κατάψυξη και απόψυξη. Η απόψυξη των δειγμάτων πρέπει να γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου.
- Τα αποψυχθέντα δείγματα πρέπει να αναμειχτούν καλά με ανακίνηση πριν την εξέταση.
- Αν τα δείγματα που έχουν αναλυθεί έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση από το βαθμονομητο με την υψηλότερη συγκέντρωση, πρέπει να αραιωθούν δυο φορές στο μηδενικό βαθμονομητο. Περαιτέρω αραιώση μπορεί να προκαλέσει λανθασμένα αποτελέσματα.

Τιμές ορού και EDTA πλάσματος από 20 δείγματα (δείγματα ορού κυμαίνονται από 0.50 μέχρι 2.07 ng/mL) συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας DSL3800 ANDROSTENEDIONE RIA αντιδραστήριο. Τα αποτελέσματα παραθέτονται παρακάτω:

[πλάσμα] = 1.03 [ορός] - 0.03

R = 0.9758

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 φύλαξης των αντιδραστηρίων που έχουν ανοιχτεί υποδεικνύονται στις αντίστοιχες ενότητες.

Σωληνάρια επιστρωμένα με αντι-ανδροστενεδιόνη: 2 x 50 σωληνάρια (έτοιμα προς χρήση)

Πλαστικά σωληνάρια με ανοσοσφαιρίνη αντι-ανδροστενεδιόνης κουνελίου ακινητοποιημένη στο εσωτερικό τοίχωμα κάθε σωληναρίου.

Ιχνηθέτης ανδροστενεδιόνης-¹²⁵I: 1 φιαλίδιο των 55 mL (έτοιμο προς χρήση)

Το φιαλίδιο περιέχει, την ημέρα που παρασκευάζεται, 185 kBq (<5 μCi), ανδροστενεδιόνης σε ρυθμιστικό διάλυμα με βάση πρωτεΐνες, αζίδιο του Νατρίου (<0,1%).

Βαθμονομητές : 1 φιαλίδιο (0) + 5 φιαλίδια (1-5) (λυσφιλημένα)

Τα βαθμονομητές φιαλίδια περιέχουν μεταξύ από 0 μέχρι κατά προσέγγιση 10,0 ng/mL (από 0 μέχρι κατά προσέγγιση 34,9 pmol/L) ανδροστενεδιόνης σε ανθρώπινο ορό με αζίδιο του Νατρίου (<0,1%). Οι ακριβείς συγκεντρώσεις αναγράφονται στην ετικέτα κάθε φιαλιδίου. Το περιεχόμενο των φιαλιδίων ανασυστάται με τον όγκο απεσταγμένου νερού που αναγράφεται στην ετικέτα. Μετά την ανασύσταση τους αποθήκευση στους 2-8 °C μέχρι 3 εβδομάδες ή στους <-20 °C μέχρι την λήξη του αντιδραστηρίου.

Οι βαθμονομητές είναι βαθμονομημένοι με βάση το διεθνές πρότυπο.

Ορός ελέγχου: 2 φιαλίδια (1, 2) (λυσφιλημένα)

Τα φιαλίδια περιέχουν ανδροστενεδιόνης αφυδατωμένη σε ανθρώπινο ορό με αζίδιο του Νατρίου (<0,1%). Οι αναμενόμενες τιμές είναι στη σειρά συγκέντρωσης που αναγράφεται στο συμπλήρωμα. Το περιεχόμενο των φιαλιδίων ανασυστάται με τον όγκο απεσταγμένου νερού που αναγράφεται στην ετικέτα. Μετά την ανασύσταση τους αποθήκευση στους 2-8 °C μέχρι 3 εβδομάδες ή στους <-20 °C μέχρι την λήξη του αντιδραστηρίου.

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

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

- Πλαστικά ή γυάλινα δοκιμαστικά σωληνάρια 12 x 75 mm για τις μετρήσεις του ιχνηθέτη (Total)
- Έδρανο σωληναρίων δοκιμασιών για 12 x 75 mm σωληνάρια.
- Μικροπιπέτες ακριβείας (50 µL).
- Απιονισμένο νερό.
- Ημι-αυτόματη πιπέτα (500 µL).
- υδατόλουτρο 37 ± 2 °C
- Σπογγώδης βάση δοκιμαστικών σωληναρίων ή παρόμοια συσκευή για μετάγγιση
- Απορροφητικό υλικό για σωληνάρια ανοσοαποτύπωσης (blotting).
- Gamma counter, σει για Ιώδιο 125.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

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

Πρότυπη καμπύλη

Τα αποτελέσματα στο τμήμα ποιοτικού ελέγχου υπολογίστηκαν «σταθμισμένη κυβική παλινδρόμηση», με τον λόγο B/T ή B/B_0 στον \log_{10} κάθετο άξονα και τις συγκεντρώσεις της αναλυόμενης ουσίας των βαθμονομητών στο, λογαριθμικό οριζόντιο άξονα (ng/mL).

$ED_{50} = 1,23 \text{ ng/mL}$.

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

Ολική ραδιενέργεια: 62.710 cpm				
Βαθμονομητές	Ανδροστεν. (ng/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	23.317	37,2	100
1	0,13	20.425	32,6	87,6
2	0,31	17.375	27,7	74,5
3	1,00	12.542	20,0	53,8
4	3,00	8.284	13,2	35,5
5	10,5	4.498	7,2	19,3

(Παράδειγμα πρότυπης καμπύλης, να μη χρησιμοποιηθεί σε υπολογισμούς)

Δείγματα

Σημειώστε τον λόγο B/T ή B/B_0 στον κάθετο άξονα, έπειτα το αντίστοιχο σημείο στην καμπύλη και διαβάστε στον οριζόντιο άξονα την αντίστοιχη συγκέντρωση ανδροστενεδιόνης σε ng/mL. Για να μετατρέψετε τις συγκεντρώσεις από ng/mL στο nmol/L, πολλαπλασιάστε τα αποτελέσματα με 3,49.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Προτείνουμε το κάθε εργαστήριο να καθιερώσει τις δικές του τιμές αναφοράς. Τα αποτελέσματα της μελέτης που πραγματοποιήθηκαν σε ανεξάρτητο εργαστήριο μέσω της συσκευασίας DSL3800 αναφέρονται παρακάτω:

Πληθυσμός	N	Διάμεσος	ΠΕΔΙΟ ΤΙΜ	
			(ng/mL)	
Άρρενες	132	1,15	0,62 - 3,12	0,64 - 2,97
Γυναίκες	99	1,09	0,24 - 3,44	0,35 - 2,78
Μετεμνηστροπαιικές γυναίκες	50	0,86	0,22 - 2,24	0,30 - 2,07

(Για περισσότερες λεπτομέρειες, βλ. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ)

ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Η σωστή εργαστηριακή πρακτική προϋποθέτει την τακτική χρήση δειγμάτων ελέγχου, προκειμένου να διασφαλίζεται η ποιότητα των αποτελεσμάτων. Η επεξεργασία των δειγμάτων αυτών πρέπει να γίνεται με τον ίδιο τρόπο με τον οποίο γίνεται η επεξεργασία των άγνωστων δειγμάτων. Επιπλέον, συστήνεται η ανάλυση των αποτελεσμάτων τους να γίνεται με τη βοήθεια 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

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

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

Ανασύσταση των προτύπων και των δειγμάτων ελέγχου

Το περιεχόμενο των φιαλιδίων ανασυστάται με τον όγκο απιονισμένου νερού που αναγράφεται στην ετικέτα. Περιμένετε 10 λεπτά μετά από την ανασύσταση και ανακατέψτε με προσοχή χωρίς να δημιουργηθεί αφρός, πριν τη διανομή του αντιδραστηρίου στα σωληνάρια.

Διαδικασία εξέτασης

Αφήστε τα αντιδραστήρια να φτάσουν σε ισορροπία σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση.

Βήμα 1 Προσθήκες*	Βήμα 2 Επώαση	Βήμα 3 Μέτρηση
Στα επιστρωμένα σωληνάρια, προσθέστε διαδοχικά: 50 µL βαθμονομητές, ορού ελέγχου ή δείγματος και 500 µL ιχνηθέτη Αναμείξτε ανακινώντας έντονα με το χέρι τη βάση στήριξης των δοκιμαστικών σωληναρίων.	Επώαση 1 ώρα στο ατμόλουτρο σε 37 °C	Αναρροφήστε ή μεταγγίστε όλα τα σωληνάρια, εκτός από εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη (Total cpm), με ταυτόχρονη αναστροφή με μια σπογγώδη βάση μέσα σε ένα δοχείο ραδιενεργών αποβλήτων. Χτυπήστε έντονα τα σωληνάρια πάνω σε απορροφητικό υλικό προς διευκόλυνση της πλήρους αποστράγγισης και στη συνέχεια αφήστε τα να στραγγίσουν πάνω σε απορροφητικό υλικό τουλάχιστον για 2 λεπτά. Μετρήστε το δεσμευμένο cpm (B) και το συνολικό cpm (T) για 1 λεπτό.

*Προσθέστε 500 µL ιχνηθέτη στα 2 σωληνάρια για να βρείτε τις ολικές κρούσεις.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

(Για περισσότερες λεπτομέρειες, βλ. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ)

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

Ευαισθησία

Αναλυτική ευαισθησία: 0,05 ng/mL

Λειτουργική ευαισθησία: 0,09 ng/mL

Εξειδίκευση

Το αντίσωμα που χρησιμοποιείτε στην ανοσοεξέταση είναι υψηλά εξειδικευμένο για την ανδροστενεδιόνη. Άκρως χαμηλές διασταυρωτές αντιδράσεις βρέθηκαν σε αρκετά ανάλογα μόρια (ανδροστερόνη, 17-υδροξυ-προγεστερόνη κορτιζόνη etc.).

Ακρίβεια

Εντός της δοκιμής

Δείγματα ορού εξετάστηκαν 25 φορές στην ίδια σειρά. Οι συντελεστές απόκλισης που προέκυψαν ήταν μικρότεροι ή ίσοι με 7,5%.

Εκτός της δοκιμής

Δείγματα ορού εξετάστηκαν δύο φορές το καθένα σε 10 διαφορετικές σειρές. Οι συντελεστές απόκλισης που προέκυψαν ήταν μικρότεροι ή ίσοι με 11,3%.

Ακρίβεια

Δοκιμή αραιώσης

Δείγματα ορού υψηλής συγκέντρωσης αραιώθηκαν διαδοχικά στο μηδενικό βαθμονομητή του kit. Τα ποσοστά ανάκτησης κυμαίνονταν μεταξύ 81,6% και 99,4%.

Δοκιμή ανάκτησης

Γνωστές ποσότητες ανδροστενεδιόνης προστέθηκαν σε δείγματα ορού χαμηλής συγκέντρωσης. Τα ποσοστά ανάκτησης κυμαίνονταν μεταξύ 93,0% και 111%.

Εύρος μέτρησης (από αναλυτική ευαισθησία έως τον υψηλότερο βαθμονομητή): από 0.05 μέχρι κατά προσέγγιση 10,0 ng/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 ανακριβά 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.
- Αποφύγετε τη χρήση βαριά αιμόλυση, ικτερικά ή λιπαιμικά δείγματα.
- 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 Androstenedione RIA

REF DSL3800

放射免疫分析试剂盒，用于定量测定人血清或血浆中雄烯二酮浓度该测定仅适用于体外诊断用

原理

雄烯二酮 (ASD, 4-雄烯-3,17-二酮) 的放射免疫分析是一种竞争分析法。放射性和非放射性抗原竞争性地结合固定数量的抗体结合位点。该分析法遵循放射免疫分析的基本原理。附着于抗体的¹²⁵I标记的雄烯二酮数量与未标记的雄烯二酮浓度成反比[1]。可通过倾倒入或抽吸抗体涂层试管的方式来分离游离的抗原和结合的抗原。建立标准曲线，未知的雄烯二酮值可通过曲线使用插值法取得。

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：

- 供体外诊断使用。
- 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。
- 请勿在标签所示失效日期之后使用部件。
- 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。
- 不得通过嘴巴移除。
- 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。

来源为人体材料

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

样本采集、处理、存放和稀释

- 推荐使用血清或血浆 (EDTA) 作为样本
- 在进行离心操作前需让血清样本完全凝集。
- 如果对血清和血浆试样的测定是在24小时内完成，就应在2-8°C温度范围内将它们贮存。如要是长期贮存，就应在<-20°C的温度条件下将它们冷冻贮存。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。
- 样本的读数如果比最高浓度的标准品浓度还高，需要适当地使用0号标准品进行稀释，并从新测定。

使用DSL3800试剂盒测定20个血清或EDTA血浆样本的值并做对比 (血清的浓度值从0.50到2.07 ng/mL)，结果如下所示：

[EDTA-血浆]=1.03[血清] - 0.03

R = 0.9758

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。

开封试剂的贮存条件在相关段落里会有说明。

抗雄烯二酮涂层的试管：2包，每包50支 (直接使用)

塑料管，管内壁上附固有免抗雄烯二酮免疫球蛋白。

¹²⁵I标记的雄烯二酮示踪剂：1小瓶，每瓶55毫升 (直接使用)

该试剂在出产的时候，其缓冲液中含有185千贝克 (<5微居里) ¹²⁵I标记的雄烯二酮，且内含蛋白质和叠氮化钠 (<0.1%)。

标准品：0号标准品一瓶，量1-5号标准品共五瓶，每瓶。(冻干品)

标准品中含有溶于人血清的浓度从0到大概10.0 ng/mL (0到大概34.9 nmol/L)的雄烯二酮，还含有叠氮化钠 (浓度小于 (<0.1%)，具体的浓度请参见各个小瓶上的标签。重新溶解所需要溶解液体积参见标签。重新溶解后，将试剂保存于2-8°C的环境下，可以保存3星期；在小于-20°C的环境下可以保存到有效期满。

标准品的值在确定时采用了国际标准。

质控品：两瓶，每瓶，标签为1,2 (冻干品)

小瓶中含有溶解于人血清中的雄烯二酮，含有叠氮化钠 (浓度小于0.1%)，质控品浓度的预期值在随试剂盒附带的纸条上。重新溶解所需要溶解液体积参见标签。重新溶解后，将试剂保存于2-8°C的环境下，可以保存3星期；在小于-20°C的环境下可以保存到有效期满。

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：

- 12×75mm的塑料或玻璃试管，用于计算总计数。
- 12×75mm试管用的试管架。
- 精密的微量吸管 (50微升)。
- 去离子水
- 半自动吸管 (500µL)
- 水槽槽，37 ± 2°C。
- 用于倾倒入的多孔架或类似装置。
- 吸水性材料，用于吸干小管上的液体。
- 伽马计数器 (为碘¹²⁵专门设置)。

结果

结果通过标准曲线使用插值法获得。标准曲线用于测定和标准品同一批次化验的样品的雄烯二酮浓度。

标准曲线

计算了质量管理部门的结果B/T或B/B₀拟合的加权三次回归曲线以及对数横轴上校准品的分析物浓度 (ng/mL) 计算得出。

ED₅₀=1.23 纳克/毫升

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。

总放射性：每分钟计数62,710				
校准品	雄烯二酮 (纳克/毫升)	cpm (3次)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	23,317	37.2	100
1	0.13	20,425	32.6	87.6
2	0.31	17,375	27.7	74.5
3	1.00	12,542	20.0	53.8
4	3.00	8,284	13.2	35.5
5	10.5	4,498	7.2	19.3

(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/B₀值，并从横轴上读出试样的相应雄烯二酮浓度值：纳克/毫升。1纳克/毫升×3.45=1纳摩尔/升如果要结果的单位从ng/mL转换到nmol/L,乘以3.49

预计值

各个实验室应确立自己的标准数值范围。以下报道的是某个独立实验室完成的一个参考范围的研究结果，仅供参考。

群体	N	中值	预期值	2.5th - 97.5th percentile
				(ng/mL)
男	132	1.15	0.62 - 3.12	0.64 - 2.97
女性	99	1.09	0.24 - 3.44	0.35 - 2.78
绝经后女性	50	0.86	0.22 - 2.24	0.30 - 2.07

(要了解更多信息, 请看“附录”)

质量控制

良好的实验室管理规范控制要求控制试样必须定期使用, 以确保获取良好质量结果。这些控制试样的操作程序要与患者试样完全一致, 建议运用合适的统计方法对其结果进行分析。如果控制试样的读取数值不准, 这可能表明操作不精确、试样操作不当或试剂变质。

如果包装损坏了或获取的数据显示其性能上存在变化, 请与当地经销商联系或通过邮件 imunochem@beckman.com 联系。

方法

试剂的准备

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。

标准品和质控品的重新溶解

按照小瓶标签上标明的体积, 重新溶解瓶中的内含物。在重新溶解十分钟后, 轻轻摇晃小瓶混匀, 避免产生泡沫。

测定程序

在抽吸程序之前, 让所有试剂处于室温状态。

第一步： 添加*	第二步： 培育	第三步： 计算
向抗体包被管中添加 50微升的校准试样、 控制试样或测定试 样, 立即加入 500 μL 的标记物。 大幅度摇动使其充 分混合。	在37±2°C的水浴槽里 培育 60 分钟	吸尽或倾出小管中的 液体(总cpm管除外), 将 整个试管架倒置, 废液 倒入放射性废液缸内。 将试管架倒置放于吸 水材料上叩击试管2 分钟以上, 并吸干管 壁上的液滴。 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

*向额外的两个试管中加入500 μL的标记物以获得总cpm。

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

分析灵敏度: 0.05 纳克/毫升

有效灵敏度: 0.09 纳克/毫升

特异性

雄烯二酮的免疫测定中使用抗体, 与几种相关分子(雄酮、17羟基孕酮、雌酮等)会产生低交叉反应(<1%)。

精确性

各次分析内

样本在同一轮测定中被测定25次, 变异系数小于等于7.5%(血清)。

各次分析间

样本在10轮次中测定, 每次测定都做两份取平均值。变异系数小于等于11.3%(血清)。

准确性

稀释试验

高浓度血清试样使用零度校准试样进行连续稀释。取得的回收率百分比在81.6%到99.4%之间(血清)。

回收试验

向低浓度血清试样中添加固定量雄烯二酮, 取得的回收率百分比在93.0%到111%之间(血清)。

测定范围 (从分析灵敏度到最高浓度校准试样): 0.05 到大概 10.0 ng/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。
- 不要使用发生溶血和浑浊的样本。
- 如果病人的样本中含有嗜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 Androstenedione RIA

REF DSL3800

RADIOIMMUNTESZT AZ ANDROSZTÉN-DION KVANTITATÍV MEGHATÁROZÁSÁHOZ HUMÁN SZÉRUMBÓL VAGY PLAZMÁBÓL A TESZTET IN VITRO DIAGNOSZTIKAI HASZNÁLATRA SZÁNJUK

MŰKÖDÉSI ELV

Az androsztén-dion (ASD, 4-Androsztén-3,17-dion) radioimmuneszt egy kompetitív teszt. Az eljárás a radioimmuneszt alapelvét követi, ahol versenyt van a radioaktív és nem radioaktív antigének között a rögzített számú antigén kötő helyekért. Az ellenanyaghoz kötődő [125I]-jelölt androsztén-dion mennyisége fordítottan arányos a jelen lévő nem jelölt androsztén-dion koncentrációjával [1]. A szabad és a kötött antigén elválasztását az ellenanyaggal fedett csövek dekatálásával vagy leszivásával valósítja meg. Felveszünk egy standard görbét és az ismeretlen androsztén-dion értékét interpolálással állapítjuk meg a görbe alapján.

A teszt összefoglalását és magyarázatát a FÜGGELÉKBEN találja meg.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

Általános megjegyzések:

- *In vitro* diagnosztikai használatra.
- A kalibrátorokat és kontrollokat tartalmazó üvegeket a lehető legrövidebb ideig tartsák nyitva a nagymértékű párolgás elkerülése érdekében.
- Ne keverjen össze különböző gyártási számú reagenseket.
- A címkén látható lejárati időn túl egyik összetevőt se használjuk fel.
- Minden vizsgálathoz készítsen standardgörbét.
- Ajánlott a vizsgálat során két párhuzamos mérést végezni.
- A kalibrátorokat és a kontrollokat össze kell keverni használat előtt forgatással vagy gyengéd keveréssel vortexelés helyett.

Alapvető sugárzásbiztonsági szabályok

Radioaktív anyagok beszerzését, felhasználását és szállítását külön jogszabályok írják elő. Az alábbi alapvető szabályok betartása megfelelő védelmet biztosíthat:

- Radioaktív anyagok jelenlétében ne fogyasszon ételt, italt, ne dohányozzon, és ne használjon kozmetikumokat.
- Ne pipettázzon szájjal.
- Kerülje a radioaktív anyagokkal történő érintkezést: viseljen kesztyűt és laboratóriumi köpenyt.
- Minden, radioaktív anyaggal végzett műveletet egy erre megfelelő, folyosóktól és más forgalmas területektől távol eső helyen kell elvégezni.
- A radioaktív anyagokat az erre biztosított edényben és egy erre kijelölt helyen kell tárolni.
- A laboratóriumba érkezett radioaktív anyagok átvételéről és tárolásáról vezessen jegyzőkönyvet.
- Azokat a laboratóriumi eszközöket és üvegedényeket, amelyek radioaktív anyaggal szennyeződhetnek, különítse el, hogy elkerülje a különböző radioizotópokkal történő keresztszennyeződést.
- Sugárszennyeződés vagy radioaktív anyag kiömlése esetén tartsa be az erre vonatkozó előírásokat.
- A radioaktív hulladékokat kezelje az adott országban érvényes szabályoknak megfelelően.

Humán eredetű anyagot

A páciensektől vett mintákat és a vérből származó termékeket az ismertett eljárás segítségével minimális kockázattal, rutinszerűen dolgozhatja fel. Azonban az általános óvintézkedéseknek és a helyes klinikai laboratóriumi gyakorlatoknak megfelelően ezeket a termékeket kezelje úgy, mint a fertőzések egyik lehetséges forrása, tekintet nélkül az eredetükre, kezelésükre vagy a korábbi tanúsítványokra. A szennyeződések eltávolítására használjon megfelelő fertőtlenítőszer; ezen anyagokat és a tárolóedényzetüket a helyi szabályozásoknak és irányelveknek megfelelően tárolja és semmisítse meg.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Nincs veszélyes anyagként besorolva.

SDS

A biztonsági adatlap megtalálható a következő internetes helyen: techdocs.beckmancoulter.com

MINTAVÉTEL, FELDOLGOZÁS, TÁROLÁS ÉS HIGÍTÁS

- Szérum és EDTA -plazma használható mintaként.
- Hagyja a szérum mintákat teljesen megalvadni centrifugálás előtt.
- A szérum vagy plazma mintákat 2-8 °C-on lehet tárolni, ha a tesztet 24 órán belül elvégzik. Hosszabb idejű tárolás esetén tartsák <-20 °C-on (maximum 1 évig). Javasolt előre kimérni azokat (aliquotozás) az ismételt fagyasztásfelolvasztás elkerülése érdekében. A minta felolvasztását szobahőn kell végezni.
- A fagyasztott mintákat fel kell olvasztani és alaposan összekeverni gyengéd kavargatással vagy forgatással használat előtt.
- Ha bármelyik minta magasabb koncentrációt mutat a legtöményebb kalibrátornál, azt a 0 ng/mL-es kalibrátorral megfelelően ki kell hígítani és újra lemérni.

20 db szérum és EDTA-kezelt plazma minta értékeit (a szérum minták értékei 0.50-től 2.07 ng/L-ig terjedtek) hasonlítottuk össze aDSL3800 Androstenedione RIA kittel. Az eredmények a következők:

[EDTA-kezelt plazma] = 1.03 x [szérum] - 0.03

R = 0.9758

SZÁLLÍTOTT ANYAGOK

A kiten szereplő összes bontatlan reagens stabil a kiten található lejárati időig, ha 2-8 °C között tárolják. A csövek címkéjén jelzett lejárati idők a gyártó részére szogáltatnak információt az adott komponens hosszú távú eltarthatóságával kapcsolatban. Kérjük ezt az adatot ne vegyék figyelembe!

A nyitott reagensekre vonatkozó tárolási körülményeket a megfelelő paragrafusban mutatjuk be.

Anti-Androsztén-dion-Fedett Csövek: 2 x 50 cső (használatra kész)

Műanyag csövek nyúl anti-androsztén-dion immunoglobulinnal kikötve mindegyik cső belső falához.

¹²⁵I-jelölt Androsztén-dion Tracer: egy 55 mL-es üveg (használatra kész)

A gyártás idejében az üveg 185 kBq (<5 µCi) [125I]-jelölt androsztén-dion-t tartalmaz pufferben proteinekkel és nátrium-aziddal (<0,1%).

Kalibrátorok: egy üveg, 0-val jelölve és öt üveg 1-5 jelölésekkel (liofilizált)

A kalibrátor üvegek 0 és kb. 10,0 ng/mL (0 és kb 34,9 nmol/L) androsztén-dion-t tartalmaznak humán szérumban és nátrium-aziddal (<0,1%). A pontos koncentrációk az üvegeken találhatóak. A fiola tartalmát a címkén feltüntetett mennyiségű desztillált vízben feloldjuk. Feloldás után 2-8 °C-on tárolja őket 3 hétig vagy <-20 °C-on a kit lejárati idejéig.

A kalibrátorokat egy belső referencia standarddal szemben verifikálják.

Kontrollok: két üveg 1 és 2 jelöléssel (liofilizált)

Az üvegek androsztén-dion-t tartalmaznak humán szérumban és nátrium-aziddal (<0,1%). A várt értékeket a kithoz tartozó kiadványban tüntettük fel. A fiola tartalmát a címkén feltüntetett mennyiségű desztillált vízben feloldjuk. Feloldás után 2-8 °C-on tárolja őket 3 hétig vagy <-20°C-on a kit lejárati idejéig.

SZÜKSÉGES, DE NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK

A standard laboratóriumi felszerelésen kívül az alábbiak szükségesek:

- 12 x 75 mm műanyag vagy üveg teszt csövek a Totál számlálásához.
- Teszt cső állvány 12 x 75 mm méretű csöveknek.
- Precíziós mikropipetták (50 µL)
- Ionmentes víz.
- félautomata pipetta (500 µL)
- Vízfürdő, 37 °C ± 2 °C.
- Szivacs állvány vagy hasonló eszköz a dekatáláshoz.
- Abszorbens anyag a csövek leitatásához.
- 125I-ra beállított gamma-számláló

EREDMÉNYEK

Az eredményeket a standard görbe interpolálásával kaptuk. A görbét használjuk a mintákban lévő androsztén-dion koncentrációjának meghatározásához, melyeket a kalibrátorokkal egyidőben mérünk le.

Standard görbe

A minőségellenőrzési osztály eredményeit kiszámították *súlyozott harmadfokú regressziós* görbe mentén történt, ahol a B/T vagy a B/B_0 logit értéke a függőleges tengelyen, a kalibrátorok analitkoncentrációjának (ng/mL) logaritmus pedig a vízszintes tengelyen található.

$ED_{50} = 1,23$ ng/mL.

Más adat redukciós eljárások kissé eltérő eredményeket adhatnak.

Totál aktivitás: 62 710 esemény/perc				
Kalibrátorok	Andro. (ng/mL)	esemény/ perc (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	23 317	37,2	100
1	0,13	20 425	32,6	87,6
2	0,31	17 375	27,7	74,5
3	1,00	12 542	20,0	53,8
4	3,00	8284	13,2	35,5
5	10,5	4498	7,2	19,3

(A standard görbe csak minta, számíthatóhoz nem használható)

Minták

Minden minta esetében helyezze el a B/T vagy B/B_0 arányt a standard görbe függőleges tengelyén és olvassa le a minták megfelelő androsztén-dion koncentrációját a vízszintes tengelyen ng/mL-ben. A koncentrációk átváltásához ng/mL-ről mmol/L-re szorozza meg az eredményeket 3.49-tel.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

Minden laboratóriumnak meg kell határoznia saját referencia tartományát. Egy független laboratórium által végzett normál tartományú vizsgálat eredményeit tartalmazza a következő táblázat, melyet csak referenciaként adunk közre.

Populáció	N	Középtérték	Min-max	2.5 - 97.5 percentilis
		(ng/mL)		
Férfiak	132	1,15	0,62 - 3,12	0,64 - 2,97
Nők	99	1,09	0,24 - 3,44	0,35 - 2,78
Menopauza utáni nők	50	0,86	0,22 - 2,24	0,30 - 2,07

(A részletekért nézzék meg a FÜGGELÉKET)

MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

Jó laboratóriumi gyakorlat szerint kontroll mintákat kell rendszeresen használni a kapott eredmények minőségének biztosítása érdekében. Ezeket a kontrollokat a betegek mintáival megegyező módon kell feldolgozni és ajánlott, hogy ezek eredményeit megfelelő statisztikai eljárással analizálják. A kontrollokra kapott nem megfelelő értékek a helytelen eljárást, a nem megfelelő minta kezelést vagy a reagensek megromlását jelezheti.

Amennyiben a csomagolás sérült, vagy az adatok a kit teljesítképességének romlására utalnak, kérjük, hogy lépjen kapcsolatba országának Immunotech képviselőjével, vagy írjon a következő e-mail címre: imunochem@beckman.com

ELJÁRÁS

A reagensek előkészítése

Engedjék a reagenseket szobahőre melegedni és alaposan keverjék össze azokat gyengéd forgatással használat előtt.

Oldjuk fel a kalibrátorokat és a kontroll mintát

A fiola tartalmát a címkén feltüntetett mennyiségű desztillált vízben feloldjuk. 10 perc várakozás után gyengéden keverje össze a szétosztás előtt elkerülőve a habosodást.

A vizsgálat menete

Hagyjuk az összes reagenst szobahőmérsékletre melegedni.

1. lépés Bemérések*	2. lépés Inkubáció	3. lépés Aktivitásmérés
Az ellenanyaggal fedett csövekhez egymás után adjunk: 50 µL kalibrátor, kontroll vagy minta, Azonnal adjanak 500 µL tracet. Alaposan keverjék össze kézzel a tartót.	Inkubáljon 1órán át 37 °C-os vízfürdőben	Szívják le vagy dekantálják a csöveket, (kivéve a «totál esemény/perc» csöveket) többszöri megfordítással egy szivacs tartóval egy radioaktív hulladék gyűjtőedénybe. Üssék oda a csöveket erősen és szárítsák ki egy nedvszívó anyagon >2 percig és gyengéden itassák le azokat. Mérje meg számlálóval a kötött esemény/perc értékeket (B) és a totál esemény/perc értékeket (T) 1 percig.

*Adjon 500 µL tracet 2 további csőhöz a «total esemény/perc» méréséhez.

MINŐSÉGI JELLEMZŐK

(A részletekért nézzék meg a FÜGGELÉKET)

A reprezentatív adatok kizárólag szemléltető jellegűek. A különálló laboratóriumok eredményei ettől eltérhetnek.

A mérés érzékenysége

Analitikai érzékenység: 0,05 ng/mL

Funkcionális szenzitivitás: 0,09 ng/mL

Specifitás

Az immuntesztben használt ellenanyag nagymértékben specifikus az androsztén-dionra. Alacsony mértékű (<1%) keresztreakciót kaptunk számos hasonló vegyületekkel (Androszteron, 17-OH-progeszteron, kortizon, stb.).

Pontosság

Intra-assay

A szérum mintákat 25-szer teszteltük ugyanabban a futtatásban. A variációs koefficiens $\leq 7,5\%$ volt.

Inter-assay

A szérum mintákat duplikátumban teszteltük 10 különböző futtatásban. A variációs koefficiens $\leq 11,3\%$ volt.

Valósság

Hígítási teszt

A magas koncentrációjú szérum mintákból sorozat-hígítást csináltunk a zero kalibrátorral. A visszanyerési százalék 81,6%-tól 99,4%-ig tartott.

Visszanyerési teszt

Alacsony koncentrációjú szérum mintákba ismert mennyiségű androsztén-diont tettünk. A visszanyerési százalék 93,0%-tól 111%-ig tartott.

Mérési tartomány (az analitikai érzékenységtől a legtöményebb kalibrátorig): 0.05 és kb 10,0 ng/mL.

KORLÁTOZÁSOK

- Ezen használati útmutató (IFU) be nem tartása jelentős hatással lehet az eredményekre.
- A csövek megfelelő leitatásának hiánya dekantálás után az eredmények gyenge ismételhetőségét és hamis értékeket eredményezhet.
- Az eredmények a beteg teljes klinikai képének (klinikai anamnézis, egyéb vizsgálatok eredményei, más releváns információk) tükrében értelmezhetők.
- Kerüljük a reagensek és a minták ismételt feklolvasztását.
- Hemolizált, icterusos vagy lipémiás mintát ne használjanak.
- Megvan az esély rá, hogy a beteg mintájában lévő heterofil ellenanyagok interferálnak. Azok a betegek akik rendszeresen

érintkeznek állatokkal vagy immunterápiát kaptak vagy diagnosztikai eljárás keretében immunglobulinokat vagy immunglobulin fragmanteket kaptak, ellenanyagokat termelhetnek, azaz HAMA-t, ami interferálhat az immunesztekkel. Ilyen interferáló ellenanyagok hibás eredményeket okozhatnak. Óvatosan értékeljék ki az olyan

betegek eredményeit, akiknél ezen antitestek létezésének gyanúja felmerül.

ACTIVE Androstenedione RIA

REF DSL3800

RADIOIMMUNOLOGICZNA METODA DO ILOŚCIOWEGO OZNACZANIA ANDROSTENDIONU W SUROWICY LUB OSOCZU CZŁOWIEKA

ZESTAW PRZEZNACZONY JEST DO DIAGNOSTYKI IN VITRO

ZASADA

Zestaw radioimmunologiczny do oznaczania androstenedionu (ASD, 4-Androstene-3,17-dion) jest zestawem kompetycyjnym. Niniejsza procedura jest zgodna z założeniami podstawowej metody radioimmunologicznej, tzn. radioaktywne antygeny konkurują z nieradioaktywnymi antygenami o określoną liczbę wiązań z przeciwciałem. Przy czym liczba znakowanego 125 I-androstendionu związanego z przeciwciałem jest odwrotnie proporcjonalna do stężenia obecnego w próbce nieoznakowanego androstendionu [1]. Oddzielenie wolnych antygenów od antygenów związanych uzyskuje się poprzez dekantację lub odciągnięcie płynnej zawartości pokrytych przeciwciałem probówek. Następnie konstruuje się krzywą standardową, z której, poprzez interpolację, można odczytać uzyskane wartości hormonu.

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.

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 odkazania. Materiały i ich opakowania należy przechowywać i usuwać zgodnie z miejscowymi zasadami i wytycznymi.

KLASYFIKACJA ZAGROZEŃ WG GHS

Substancja niesklasyfikowana jako niebezpieczna



Karta charakterystyki jest dostępna w witrynie techdocs.beckmancoulter.com

ZBIERANIE PRÓB, PRZYGOTOWYWANIE, ROZCIĘCZANIE I PRZECHOWYWANIE

- Zalecane typy prób to surowica i osocze z EDTA.
- Przed odwirowaniem należy odstawić próbki do wytworzenia pełnego skrzepu.
- Próbki moczu mogą być przechowywane w 2-8°C, jeżeli oznaczenie zostanie przeprowadzone w ciągu 24 godzin. Jeżeli oznaczenie będzie przeprowadzone później, to należy odpowiednio rozdozowane próbki zamrozić (<-18°C, najdłużej 1 rok), aby nie powtarzać zamrażania i rozmrażania tej samej próbki. Rozmrażanie próbek musi być przeprowadzane w temperaturze pokojowej.
- zamrożone próbki należy rozmrozić i następnie delikatnie wymieszać przed użyciem,
- jeśli próbka pokazuje stężenie większe niż stężenie najwyższego kalibratora, powinna być odpowiednio rozcieńczona kalibratorem 0 ng/mL a samo oznaczenie powtórzone.

Wartości surowicy i osocza z EDTA dla 20 prób (zakres wartości dla próbek surowicy 0.50 - 2,07 ng/mL) zostały porównane przy użyciu zestawu DSL3800 Androstenedione RIA.

Uzyskane wyniki: [osocze] = 1.03 [surowica] - 0.03

R = 0.9758

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 podane są w odpowiednich paragrafach.

Próbki opłaszczone pokryte przeciwciałem przeciw androstenedionowi: 2 x 50 probówek (gotowy do użycia)

Plastikowe próbki z króliczą immunoglobuliną przeciw-androstendionowi unieruchomioną na wewnętrznej ściance każdej próbki.

Znacznik androstenedionu znakowany ¹²⁵I : jedna fiołka 55 mL (gotowy do użycia)

Na czas produkcji, fiołka zawiera 185 kBq (<5 µCi), androstendionu znakowanego ¹²⁵I w buforze zawierającym białka oraz azydek sodu (<0,1%).

Kalibratory: jedna fiołka (oznaczona 0) i pięć fiolek (oznaczone 1-5) (liofilizat)

Fiolki z kalibratorami zawierają od 0 do około 10 ng/mL (0 do około 34,9 nmol/L) androstendionu w ludzkiej surowicy z azydkiem sodu (<0,1%). Dokładne stężenia są podane na etykiecie każdej fiołki. Zawartość fiolek jest odtwarzana przez dodanie wody zdejonizowanej, której objętość podana jest na etykiecie fiołki. Uwodnione kalibratory można 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.

Kontrole: dwie fiołki oznaczone 1,2 (liofilizat)

Fiolki zawierają androstendion w ludzkiej surowicy z azydkiem sodu (<0,1%). Oczekiwane stężenia są podane w suplemencie dołączonym do zestawu. Zawartość fiolek jest odtwarzana przez dodanie wody zdejonizowanej, której objętość podana jest na etykiecie fiołki. Uwodnione kontrole można

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 próbki (12 mm x 75 mm) do zliczeń całkowitych
- stojak na próbki (12 x 75 mm)
- Dokładna mikropipeta (50 µL).
- Woda dejonizowana.
- Półautomatyczna pipeta (500 µL).
- łaźnia wodna na 37°C ± 2°C
- stojak gąbkowy lub inne urządzenie do dekantacji
- materiał chłonący do osuszania próbek
- Licznik gamma do 125 J.

WYNIKI

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

Krzywa standardowa

Wyniki w dziale kontroli jakości zostały obliczone przy użyciu krzywej *ważona reguła szesnastkowa* dopasowania z *B/T* lub *B/B₀* na logit osi pionowej i stężeniem analitu kalibratorów na logarytmicznej osi poziomej (ng/mL).

ED₅₀ = 1,23 ng/mL.

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

Całkowita aktywność: 62 710 cpm				
Kalibratory	Andro. (ng/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	23 317	37,2	100
1	0,13	20 425	32,6	87,6
2	0,31	17 375	27,7	74,5
3	1,00	12 542	20,0	53,8
4	3,00	8284	13,2	35,5
5	10,5	4498	7,2	19,3

(Przykładowe wartości do krzywej wzorcowej, nie do zastosowania)

Próbki

Dla każdej próbki odnajdź B/T albo B/B₀ na osi pionowej i odczytaj odpowiadające tej wartości stężenie androstendionu w ng/mL, na osi poziomej. Aby przeliczyć ng/mL na nmol/L pomnóż wynik przez 3.49.

OCZEKIWANE WARTOŚCI

Każde laboratorium powinno ustalić własne wartości normalne. Poniższe zakresy normalne uzyskane są w oznaczeniach przeprowadzonych przez niezależne laboratorium i podane są wyłącznie jako wskazówka dla odniesienia.

Populacja	N	Mediana	Oczekiwany zakres	2.5ty-97. 5ty
				percentyl
(ng/mL)				
Mężczyźni	132	1,15	0,62 - 3,12	0,64 - 2,97
Kobiety	99	1,09	0,24 - 3,44	0,35 - 2,78
Kobiety po menopauzie	50	0,86	0,22 - 2,24	0,30 - 2,07

(Szczegóły, patrz 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 oznaczenia były dokładnie i statystycznie analizowane aby prawidłowo ocenić jakość zestawu

lub prawidłowość przebiegu procedury. Odbiegające od normy rezultaty dla prób kontrolnych mogą bowiem wskazywać na nieprecyzyjność czynności w czasie oznaczania, niewłaściwe użytkowanie próbek lub wadliwość odczynników.

W przypadku uszkodzenia paczki lub jeżeli opracowanie otrzymanych wyników sprawia trudności proszę się kontaktować z miejscowym dystrybutorem lub pod adresem E-mail: imunochem@beckman.com

PROCEDURA

Przygotowanie odczynników

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

Odtwarzanie kalibratorów i kontroli

Zawartość fiolek jest odtwarzana przez dodanie wody zdejonizowanej, której objętość podana jest na etykiecie fiolek. Odczekać 10 min. od rozcieńczenia liofilizatu wodą, następnie delikatnie zmieszać aby uniknąć spienienia przed dozowaniem.

Procedura oznaczania

Wszystkie odczynniki przed pipetowaniem należy doprowadzić do temperatury pokojowej.

Etap 1 Dodawanie*	Etap 2 Inkubacja	Etap 3 Zliczanie
Do pokrytych przeciwciałem próbek dodać kolejno: 50 µL kalibratora, kontroli lub próbki, 500 µL znacznika.	Inkubować 1 godzinę w 37°C w łaźni wodnej.	Odciągnąć lub dekantować płynną zawartość próbek, (poza próbkami «całkowite cpm»), odwracając stojak gąbkowy tak by zawartość spłynęła do pojemniczka na odpad radioaktywny. Strząsnąć zdecydowanie próbki następnie odsączać na chłonący materiał przez > 2 min. delikatnie osuszając próbki. Zliczać związane cpm (B) oraz całkowite cpm (T) przez 1 min.
Wymieszać energicznie ich zawartość trzymając stojak w ręce.		

*Dodać 500 µL znacznika do 2 dodatkowych próbek żeby uzyskać «całkowite cpm».

CHARAKTERYSTYKA TESTU

(Szczegóły, patrz APPENDIX)

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

Czułość

Analizyczna czułość: 0,05 ng/mL

Funkcyjna czułość: 0,09 ng/mL

Specyficzność

Przeciwciała użyte w zestawie jest wysoce specyficzne w stosunku do androstendionu. Otrzymano niską (<1%) reaktywność krzyżową w stosunku do kilku pokrewnych molekuł (Androsteronu, 17-OH progesteronu, kortyzonu etc).

Precyzja

Wewnątrz zestawu

Próbki surowicy z tej samej serii były oznaczane 25 razy. Współczynnik wariancji wyniósł ≤7,5%.

Między oznaczeniami

Próbki surowicy były oznaczane w duplikatach w 10 różnych seriach. Współczynnik wariancji wyniósł ≤11,3%.

Kontrola dokładności

Test rozcieńczania

Próbki surowicy o wysokim stężeniu były seryjnie rozcieńczane kalibratorem zero. Procentowe odzyski obliczono w zakresie 81,6% do 99,4%.

Test odzysku

Do próbek surowicy o niskim stężeniu dodano znane ilości androstendionu. Procentowe odzyski obliczono w zakresie 93,0% to 111%.

Zakres pomiarowy (od czułości analitycznej testu do stężenia najwyższego kalibratora): 0.05 do około 10,0 ng/mL.

OGRANICZENIA

- Niestosowanie się do instrukcji używania może znacząco wpłynąć na wyniki
- Niewystarczające osuszenie próbek 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.
 - Nie używać zhemolizowanych, żółtaczkowych i lipemicznych próbek.
 - 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 oznaczenie zestawem i mogące być powodem błędnych wyników. Wyniki pacjentów podejrzanych o obecność podobnych przeciwciał należy poddać uważnej analizie.
-

ACTIVE Androstenedione RIA

REF DSL3800

KVANTITATIVNÍ RADIOIMUNOANALYTICKÉ STANOVENÍ ANDROSTENDIONU V LIDSKÉM SÉRU NEBO PLAZMĚ TOTO STANOVENÍ JE URČENO PRO DIAGNOSTIKU IN VITRO.

PRINCIP

Radioimunoanalytické stanovení androstendionu (ASD, 4-androsten-3,17-dion) je kompetitivní stanovení. Postup je založen na principu radioimunoanalýzy, kde spolu soutěží radioaktivně značený a neznačený antigen o daný počet vazebných míst na protilátce. Množství 125I-značeného androstendionu vázaného na protilátku je nepřímo úměrné množství neznačeného androstendionu přítomného ve vzorku [1]. K separaci vázané a volné frakce z roztoku se používají zkumavky pokryté specifickou protilátkou. Po změření vázané aktivity v gama-čítači se sestrojí kalibrační křivka a z ní se odečtou koncentrace androstendionu 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 miškadle 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 zářiči. 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.

Biologický materiál lidského původu

Pacientské vzorky a materiály pocházející z krve lze popsáním 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 směrnici.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné

SDS

Bezpečnostní list je k dispozici na adrese
techdocs.beckmancoulter.com

SBĚR A PŘÍPRAVA, SKLADOVÁNÍ A ŘEDĚNÍ VZORKŮ

- Odebírejte vzorky krve do zkumavek s EDTA nebo bez aditiv.
- Vzorky séra nechejte před odstředěním náležitě srazit.
- Vzorky moči lze skladovat při 2-8 °C, jestliže bude stanovení provedeno do 24 hodin. Při delším skladování (maximálně 1 rok) je nutno vzorky zamrazit při <-18 °C, nejlépe v alikvotech, aby se předešlo opakovanému rozmrazování a zmrazování. Rozmrazování provádějte při laboratorní teplotě.
- Rozmrazené vzorky před pipetací řádně promíchejte převrácením.
- Pokud obsahují vzorky vyšší koncentraci než je koncentrace nejvyššího kalibrátoru, je třeba je zředit dvakrát nulovým kalibrátorem a znovu analyzovat. Další ředění mohou dávat chybné výsledky.

Soupravou DSL3800 bylo porovnáno 20 dvojic vzorků séra a EDTA-plazmy (hodnoty sér byly od 0,50 ng/ml do 2,07ng/ml). Výsledky dávají rovnici:

[EDTA-plazma] = 1,03 [sérum] - 0,03

R = 0.9758

POSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Všechny reagenty 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.

Podmínky pro skladování reagentů po otevření jsou uvedeny v příslušných kapitolách.

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

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

Radioindikátor ¹²⁵I-androstendion: 1 lahvička (55 ml); připraven k použití.

Lahvička obsahuje ke dni výroby 185 kBq (<5 µCi), ¹²⁵I-značeného androstendionu v tlumivém roztoku s proteiny, azidem sodným (<0,1 %).

Kalibrátory: 1 lahvička (označená 0) + 5 lahviček (označených 1 – 5); lyofilizáty.

Lahvičky obsahují od 0 do přibližně 10,0 ng/ml (0 do přibližně 34,9 nmol/l) androstendionu v lidském séru s azidem sodným (<0,1 %). Přesné koncentrace jsou uvedeny na štítcích lahviček. Obsah lahviček se rozpustí v deionizované vodě, jejíž objem je uveden na štítku lahvičky. Po rekonstituci skladujte do 3 týdnů při 2-8 °C, déle pak při <-20 °C do data expirace soupravy.

Kalibrátory jsou kalibrovány na vnitřní standard.

Kontrolní vzorky: 2 lahvičky označené 1, 2; lyofilizáty.

Lahvičky obsahují androstendion, lyofilizovaný v lidském séru s azidem sodným (<0,1 %). Koncentrační rozsah očekávaných hodnot je uveden v příloze návodu. Obsah lahviček se rozpustí v deionizované vodě, jejíž objem je uveden na štítku lahvičky. Po rekonstituci 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:

- 12 x 75 mm plastové nebo skleněné zkumavky pro stanovení celkové aktivity,
- stojánek pro zkumavky rozměru 12 x 75 mm,
- Přesná mikropipeta (50 µl).
- Deionizovaná voda.
- poloautomatická pipeta (500 µl)
- vodní lázeň 37 ± 2 °C ,
- stojánek s držákem zkumavek – pro dekantaci,
- filtrační papír pro osušení zkumavek,
- Gama-čítač, kalibrován na 125I.

VÝSLEDKY

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

Kalibrační křivka

Výsledky v oddělení kontroly kvality byly vypočteny za použití křivky vážené kubické regrese s parametrem B/T nebo B/B_0 na svislé logit ose a koncentrací analytu kalibrátorů na vodorovné logaritmické ose (ng/ml).

$ED_{50} = 1,23$ ng/ml.

Jiné metody zpracování mohou dávat mírně rozdílné výsledky.

Total cpm: 62 710 cpm				
Kalibrátory	Andro. (ng/ml)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	23 317	37,2	100
1	0,13	20 425	32,6	87,6
2	0,31	17 375	27,7	74,5
3	1,00	12 542	20,0	53,8
4	3,00	8 284	13,2	35,5
5	10,5	4 498	7,2	19,3

(Příklad typického stanovení, nepoužívejte pro výpočet.)

Vzorky

Na vertikální ose lokalizujte pro každý vzorek hodnoty B/T nebo B/B₀ a na horizontální ose odečtěte odpovídající koncentrace androstendionu v ng/ml. Přepočet koncentrací z ng/ml na nmol/l se provede vynásobením výsledků faktorem 3,49.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní rozmezí referenčních hodnot. Výsledky rozsahu normálních hodnot naměřené nezávislou laboratoří jsou uvedeny níže:

Populace	N	Medián	Očekávaný rozsah	2,5 - 97,5 percentil
			(ng/ml)	
Muži	132	1,15	0,62 - 3,12	0,64 - 2,97
Ženy	99	1,09	0,24 - 3,44	0,35 - 2,78
Ženy po menopauze	50	0,86	0,22 - 2,24	0,30 - 2,07

(podrobnosti jsou uvedeny v příloze "APPENDIX")

KONTROLA KVALITY

Správná laboratorní praxe předpokládá, že se kontrolní vzorky používají 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 reagensů.

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

POSTUP

Příprava a skladování reagensů

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

Příprava kalibrátorů a kontrolního vzorku

Obsah lahvíček se rozpustí v deionizované vodě, jejíž objem je uveden na štítku lahvíčky. Po přidání vody nechte volně rozpouštět 10 minut a potom lehce bez napěnění promíchejte.

Schéma postupu

Nechte reagensy před pipetací vytemperovat na lab. teplotu.

Krok 1 Pipetace*	Krok 2 Inkubace	Krok 3 Měření
Do potažených zkumavek pipetujte na dno postupně: 50 µl kalibrátoru, kontroly nebo vzorku, a okamžitě 500 µl radioindikátoru. Ručně protřepte stojánek se zkumavkami.	Inkubujte 60 minut ve vodní lázni při 37 °C.	Odsajte nebo vylijte obsah zkumavek do radioaktivního odpadu (s výjimkou 2 zkumavek pro „total“). Nechte 2 minuty okapat na savý podklad a pečlivě oťete okraj zkumavek. Měřte po dobu 1 min. vázanou aktivitu (B) a celkovou aktivitu (T).

*Napijetujte po 500 µl radioindikátoru do 2 zkumavek pro zjištění celkové aktivity (T).

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

(podrobnosti jsou uvedeny v příloze "APPENDIX")

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

Mez detekce

Analytická citlivost: 0,05 ng/ml

Funkční citlivost: 0,09 ng/ml

Specifita

Protilátka použitá v systému je vysoce specifická pro androstendion. Ostatní přirozeně se vyskytující hormony (androsteron, 17 OH-progesteron, kortison atd.) dávají extrémně nízkou (<1 %) zkříženou reakci.

Přesnost

Intra-assay

Vzorky séra byly analyzovány 25x v jednom stanovení. Hodnota variačního koeficientu byla menší nebo rovna 7,5 %.

Inter-assay

Vzorky séra byly analyzovány duplikátech v 10 nezávislých analýzách. Hodnota variačního koeficientu byla menší nebo rovna 11,3 %.

Správnost

Test ředění

Vzorky séra s vysokou koncentrací byly postupně ředěny nulovým kalibrátorem a analyzovány. Naměřené hodnoty „recovery“ se pohybovaly v rozmezí 81,6 % až 99,4 %.

Test „recovery“

Ke vzorkům séra s nízkou hladinou androstendionu byla přidána různá známá množství androstendionu a vzorky byly analyzovány. Naměřené hodnoty „recovery“ se pohybovaly v rozmezí 93,0 % až 111 %.

Rozsah stanovení (od analytické citlivosti do nejvyššího kalibrátoru): 0,05 do přibližně 10,0 ng/ml.

OMEZENÍ

- Nedodržení instrukcí uvedených v tomto návodu může vést k nesprávným výsledkům.
- Nedostatečné osušení zkumavek pomocí svého 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.
- Vyhnete se opakovanému zmrazování a rozmrazování reagensů a vzorků.
- Nepoužívejte hemolyzované, ikterické ani lipemické vzorky.
- 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 Androstenedione RIA

REF DSL3800

KVANTITATÍVNE RÁDIOIMUNOANALYTICKÉ STANOVENIE ANDROSTENDIÓNU V ĽUDSKOM SÉRE ALEBO PLAZME TOTO STANOVENIE JE URČENÉ PRE DIAGNOSTICKÉ POUŽITIE IN VITRO.

PRINCÍP

Rádioimunoanalytické stanovenie androstendiónu (ASD, 4-androsten-3,17-dion) je kompetitívne stanovenie. Postup je založený na princípe rádioimunoanalýzy, kde spolu súťažia rádioaktívne značený a neznačený antigén o daný počet väzbových miest na protilátke. Množstvo 125I-značeného androstendiónu viazaného na protilátku je nepriamo úmerné množstvu neznačeného androstendiónu prítomného vo vzorke [1]. K separácii viazanej a voľnej frakcie z roztoku sa používajú skúmavky potiahnuté špecifickou protilátkou. Po zmeraní viazanej aktivity v gama-čítači sa zostrojí kalibračná krivka a z nej sa odpočítajú koncentrácie androstendiónu 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.

Biologický 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.

PI-DSL3800-02

SDS

Bezpečnostný list je k dispozícii na stránkach
techdocs.beckmancoulter.com

ZBER A PRÍPRAVA, SKLADOVANIE A RIEDENIE VZORIEK

- Odoberajte vzorky krvi do skúmaviek s EDTA alebo bez aditív.
- Vzorky krvi nechajte pred centrifugáciou úplne vyzrázať.
- Vzorky moča možno skladovať pri 2-8 °C, ak sa stanovenie urobí do 24 hodín. Pri dlhšom skladovaní (maximálne 1 rok) je nutné vzorky zmraziť pri <-18 °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 vyššie koncentrácie ako je koncentrácia najvyššieho kalibrátora, je treba ich zriediť dvakrát nulovým kalibrátorom a znovu analyzovať. Ďalšie riedenie môžu spôsobiť chybné výsledky.

Súpravou DSL3800 bolo porovnaných 20 dvojíc vzoriek séra a EDTA-plazmy (hodnoty sér boli od 0,50 ng/ml do 0,07 ng/ml) Výsledky dávajú rovnicu:

[EDTA-plazma] = 1,03 [sérum] - 0,03

R = 0.9758

POSKYTOVANÝ MATERIÁL

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

Podmienky pre skladovanie reagentov po otvorení sú uvedené v príslušných kapitolách.

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

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

Rádioindikátor ¹²⁵I-androstendión: 1 fľaštička (55 ml); pripravený k použitiu.

Fľaštička obsahuje ku dňu výroby 185 kBq (<5 µCi), ¹²⁵I-značeného androstendiónu v tmivom roztoku s proteínmi, azidom sodným (<0,1 %).

Kalibrátory: 1 fľaštička (označená 0) + 5 fľaštičiek (označených 0 – 5); lyofilizáty.

Fľaštičky obsahujú od 0 do približne 10,0 ng/ml (0 do približne 34,9 nmol/l) androstendiónu v ľudskom sére s azidom sodným (<0,1 %). Presné koncentrácie sú uvedené na štítkoch fľaštičiek. Obsah fľaštičiek sa rozpustí v deionizovanej vode, ktorej objem je uvedený na štítku fľaštičky. Po rekonštitúcii skladujte do 3 týždňov pri 2-8 °C, dlhšie potom pri <-20 °C do dátumu expirácie súpravy.

Kalibrátory sú kalibrované na vnútorný štandard.

Kontrolné vzorky: 2 fľaštičky označené 1, 2; lyofilizáty.

Fľaštičky obsahujú androstendión, lyofilizovaný v ľudskom sére s azidom sodným (<0,1 %). Koncentračný rozsah očakávaných hodnôt je uvedený v prílohe návodu. Obsah fľaštičiek sa rozpustí v deionizovanej vode, objem ktorej je uvedený na štítku fľaštičky. Po rekonštitúcii 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:

- 12 x 75 mm plastové alebo sklenené skúmavky pre stanovenie „totalu“,
- stojan pre skúmavky rozmeru 12 x 75 mm,
- Presná mikropipeta (50 µl).
- Deionizovaná voda
- poloautomatická pipeta (500 µl)
- vodná kúpeľ 37 ± 2 °C,
- stojan s držiakom skúmaviek – pre dekantáciu,
- filtračný papier pre osušenie skúmaviek,

- Gama-merač kalibrován na 125l.

VÝSLEDKY

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

Kalibračná krivka

Výsledky v oddelení kontroly kvality boli vypočítané preložením krivky metódou *váženej kubickej regresii*. Na logit vertikálnu os sa vyniesli hodnoty B/T alebo B/B_0 a na logaritmickú horizontálnu os koncentrácie analytu v kalibrátoroch (ng/ml).

$ED_{50} = 1,23$ ng/ml.

Iné metódy spracovania môžu dávať mierne rozdielne výsledky.

Total cpm: 62 710 cpm				
Kalibrátory	Andro. (ng/ml)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	23 317	37,2	100
1	0,13	20 425	32,6	87,6
2	0,31	17 375	27,7	74,5
3	1,00	12 542	20,0	53,8
4	3,00	8284	13,2	35,5
5	10,5	4498	7,2	19,3

(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 androstendiónu v ng/ml. Prepočet koncentrácií z ng/ml na nmol/l sa urobí vynásobením výsledkov faktorom 3,49.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

Každé laboratórium by si malo stanoviť vlastné rozmedzie referenčných hodnôt. Výsledky rozsahu normálnych hodnôt získané pomocou súpravy DSL3800 ACTIVE Androstenedione RIA kit, nezávislým laboratóriom sú uvedené nižšie:

Populácia	N	Medián	Očakávaný rozsah	2,5-97,5 percentil
		(ng/ml)		
Muži	132	1,15	0,62 - 3,12	0,64 - 2,97
Ženy	99	1,09	0,24 - 3,44	0,35 - 2,78
Postmenopauzálne ženy	50	0,86	0,22 - 2,24	0,30 - 2,07

(podrobnosti 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 reagensov.

V prípade závažného poškodenia obalu, alebo ak získané výsledky nie sú v zhode s analytickými parametrami stanovenia, kontaktujte prosím našich odborných pracovníkov. E-mail: imunochem@beckman.com

POSTUP

Príprava reagensov

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

Príprava kalibrátorov a kontrolnej vzorky

Obsah fľaštičiek sa rozpustí v deionizovanej vode, objem je uvedený na štítku fľaštičky. Po pridaní vody nechajte voľne rozpúšťať 10 minút a potom ľahko bez napenenia premiešajte.

Schéma postupu

Nechajte reagensy pred pipetovaním vytemperovať na lab. teplotu.

Krok 1 Pipetácia	Krok 2 Inkubácia	Krok 3 Meranie
Do potiahnutých skúmaviiek pipetujte na dno postupne: 50 µl kalibrátoru, kontroly alebo vzorku, a okamžite 500 µl rádioindikátora. Ručne pretrepte stojan so skúmvkami.	Inkubujte 60 minút vo vodnom kúpeli pri 37 °C.	Odsajte alebo vylejte obsah skúmaviiek do rádioaktívneho odpadu (s výnimkou 2 skúmaviiek pre „total“). Nechajte 2 minúty odkvapkať na savý podklad a pozorne utrite okraj skúmaviiek. Merajte po dobu 1 min. viazanú aktivitu (B) a celkovú aktivitu (T).

*Napipetujte po 500 µl rádioindikátora do 2 skúmaviiek na zistenie celkovej aktivity (T).

VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

(podrobnosti sú uvedené v prílohe "APPENDIX")

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

Citlivosť

Analytická citlivosť: 0,05 ng/ml

Funkčná citlivosť: 0,09 ng/ml

Špecifita

Protílátka použitá v systéme je vysoko špecifická pre androstendión. Ostatné prirodzené sa vyskytujúce hormóny (androsterón, 17 OH-progesterón, kortizon atd.) dávajú extrémne nízku (<1 %) skříženú reakciu.

Presnosť

Intra-assay

Vzorky séra boli analyzované 25x v jednom stanovení. Hodnota variačného koeficientu bola menšia alebo rovná 7,5 %.

Inter-assay

Vzorky séra boli analyzované v duplikátoch v 10 nezávislých analýzach. Hodnota variačného koeficientu bola menšia alebo rovná 11,3 %.

Správnosť

Test riedenia

Vzorky séra s vysokou koncentráciou boli postupne riedené nulovým kalibrátorom a analyzované. Namerané hodnoty „recovery“ sa pohybovali v rozmedzí 81,6 % až 99,4 %.

Test „recovery“

Ku vzorkám séra s nízkou hladinou androstendiónu boli pridané rôzne známe množstvá androstendiónu a vzorky boli analyzované. Namerané hodnoty „recovery“ sa pohybovali v rozmedzí 93,0 % až 111 %.

Rozsah stanovenia (od analytickej citlivosti do najvyššieho kalibrátoru): 0,05 do približne 10,0 ng/ml.

OBMEDZENIA

- Nedodržanie inštrukcií uvedených v tomto návode môže viesť k nesprávnym výsledkom.
- Nedostatočné osušenie skúmaviiek 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.
- Vyhňte sa opakovanému zmrazovaniu a rozmrazovaniu reagensov a vzoriek.
- Nepoužívajte hemolyzované, ikterické ani lipemické vzorky.
- U stanovení využívajúcich protílátok existuje možnosť interferencie heterofilných protílátok 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 protílátka ako napríklad HAMA (Human Anti-Mouse Antibodies - ľudské protílátka proti myšim proteínom), ktoré interferujú pri imunologických stanoveniach. Takéto interferujúce protílátka

môžu viesť k chybným výsledkom. Výsledky pacientov, u ktorých

existuje podozrenie na prítomnosť takýchto protilátok, posudzujte s opatnosťou.

ACTIVE Androstenedione RIA

REF DSL3800

İNSAN SERUM VEYA PLAZMASINDA ANDROSTENEDİON'UN KANTİTATİF ÖLÇÜMÜ İÇİN RADIOİMMUNOASSAY KİT BU KİT SADECE IN VITRO TANI AMAÇLI KULLANIM İÇİNDİR

PRENSİP

Androstenedion (ASD, 4-Androstene-3,17-dione) 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 [125I]-işaretlenmiş androstenedion miktarı, işaretlenmemiş androstenedione miktarı ile ters orantılıdır. Serbest ve bağlanmış antijenin ayrıştırılması, antikor kaplanmış tüplerin yıkanması ve aspire edilmesi ile sağlanır [1]. Bir kalibrasyon eğrisi oluşturulur ve bilinmeyen androstenedion 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 bölümlerden 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 çözülmelidir.
- Radyoaktif atıklar, ülkenin kurallarına uyularak ele alınmalı ve yok edilmelidir.

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 adresinden ulaşılabilir

NUMUNE TOPLANMASI, SAKLANMASI VE DİLÜSYONU

- Numune tipi olarak serum veya plazma (EDTA) önerilmektedir.
- Santrifüj öncesinde serum örneklerinin tamamen pıhtılaşmasını bekleyin.
- Eğer test 24 saat içinde gerçekleştirilecekse, idrar numuneleri 2-8°C'de saklanabilir. Daha uzun süre saklanacaksa (<-18°C, maksimum 1 yıl)'de tekrar çözüp dondurma işlemini önlemek için bölerek dondurunuz. Numunelerin buzu oda ısısında çözündürülmelidir.
- Dondurulmuş numuneler çözüldükten sonra elde yavaşça çevrilerek iyice karıştırılmalı veya kullanmadan önce ters çevrilmelidir.
- En yüksek kalibratörün konsantrasyonundan daha yüksek okumalar 0 ng/mL kalibratör ile dilüe edilerek tekrar test edilmelidir.

20 numunenin serum ve EDTA-plazma değerleri (serum numuneleri 0,50 ile 2,07 ng/mL değerleri arasında) DSL3800 ANDROSTENEDİON RIA Kiti kullanılarak karşılaştırıldı. Sonuçlar aşağıda belirtilmiştir:

[plazma] = 1,03 [serum] - 0,03

R = 0.9758

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 saklanması durumunda geçerlidir.

Açılmış reaktifler için saklama koşulları, ilgili paragraflarda belirtilmiştir.

Anti-Androstenedion-Kaplanmış Tüpler: 2 x 50 tüp (kullanıma hazır)

İç duvarları tavşan anti-androstenedion immunoglobulin kaplanmış plastik tüpler.

¹²⁵I-İşaretlenmiş Androstenedion Tracer: 55 mL bir şişe (kullanıma hazır)

Üretim tarihinde şişe, sodyum asit (<%0,1) ve protein içeren tampon içinde 185 kBq (<5 µCi) ¹²⁵I-İşaretlenmiş androstenedion içerir.

Kalibratörler: 0 işaretlenmiş şişe ve 1-5 işaretlenmiş beş şişe (liyofilize)

Kalibratör şişeleri, sodyum asit (<%0,1) ve insan serumu içinde 0 ile yaklaşık 10,0 ng/mL (0 ile yaklaşık 34,9 nmol/L) arasında androstenedion içerir. Tam konsantrasyon, her bir şişenin üzerindeki etikette belirtilmiştir. Şişelerin içeriği etikette belirtilen miktarda deiyonize su ile sulandırılmalıdır. Çözüldükten sonra, 3 haftaya kadar 2-8°C'de veya <-20°C'de kitin son kullanma tarihine kadar saklayınız.

Kalibratörler, bir internal referans standardına göre doğrulanmıştır.

Kontroller: 1, 2 etiketlenmiş iki şişe (liyofilize)

Şişeler, sodyum asit (<%0,1) ve insan serumu içinde androstenedion içerir. Beklenen değerler, kit içinde sağlanan ekte belirtilmiştir. Şişelerin içeriği etikette belirtilen miktarda dis deiyonize su ile sulandırılmalıdır. Çözüldükten 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).
- Deiyonize su.
- Yarı-otomatik pipet (500 µL).
- 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.

SONUÇLAR

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

Standard eğrisi

Kalite kontrol departmanındaki sonuçlar hesaplandı sonuçlar logit dikey ekseninde B/T (%) ağırlıklı kübik regresyon eğri uydurma ve logaritmik yatay ekseninde (ng/mL) kalibratörlerin analit konsantrasyonu kullanılarak hesaplanmıştır.

ED₅₀ = 1,23 ng/mL.

Diğer veri indirgeme metodları biraz farklı sonuçlar verebilir.

Total aktivite: 62.710 sayım/dak				
Kalibratörler	Andro. (ng/mL)	sayım/dak (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	23.317	37,2	100
1	0,13	20.425	32,6	87,6
2	0,31	17.375	27,7	74,5
3	1,00	12.542	20,0	53,8
4	3,00	8.284	13,2	35,5
5	10,5	4.498	7,2	19,3

(Standard eğrisi örneği, hesaplamada kullanmayınız)

Numuneler

Her bir numune için, dikey ekseninde B/T veya B/B₀ yerini belirleyiniz ve yatay ekseninde ona karşılık gelen androstenedion konsantrasyonunu ng/mL olarak okuyunuz. ng/mL'yi nmol/L'e dönüştürmek için sonuçları 3.49 ile çarpınız.

BEKLENEN DEĞERLER

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

Popülasyon	N	Medyan	Beklenen değerler (ng/mL)	2,5 - 97,5 percentile
Erkekler	132	1,15	0,62 - 3,12	0,64 - 2,97
Kadınlar	99	1,09	0,24 - 3,44	0,35 - 2,78
Postmenopozal Kadınlar	50	0,86	0,22 - 2,24	0,30 - 2,07

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

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. Kontrollerden, beklenen sonuçların alınmaması, hatalı manipülasyon, numunenin hazırlanmasındaki hata veya reaktiflerin bozulmasından kaynaklanabilir.

Paketteki bozulma veya alınan verilerde değişiklik olduğu durumlarda lütfen yerel distribütörünüzü arayınız veya aşağıdaki e-mail adresini kullanınız. imunochem@beckman.com

PROSEDÜR

Reaktiflerin hazırlanması

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

Kalibratör ve kontrol serumlarının hazırlanması

Şişelerin içeriği etikette belirtilen miktarda deiyonize su ile sulandırılmalıdır. Çözdükten sonra 10 dakika bekleyiniz ve köpüklendirmeden, yavaşça karıştırınız.

Test prosedürü

Pipetlemeden önce bütün reaktifleri oda ısısına getiriniz.

Aşama 1 Eklemler	Aşama 2 Inkübasyon	Aşama 3 Sayım
Antikor eklenmiş tüplere dikkatlice ekleyiniz:	1 saat 37°C Su banyosunda 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,		Tüpleri kağıt havlu üzerine ters çevirerek sertçe vurunuz ve >2 dakika bekleterek tüpleri kurutunuz.
500 µL tracer ekleyiniz.		Bağlı sayım/dak (B) ve total sayım/dak'yi (T) 1 dakika sayınız.
Rack'ı elinizle iyice sallayınız.		

*«Total sayım/dak»'yi elde etmek için 2 ek tüpe 500 µL tracer ekleyiniz.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

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

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

Hassasiyet

Analitik duyarlılık: 0,05 ng/mL

Fonksiyonel duyarlılık: 0,09 ng/mL

Özgüllük

Bu kitte kullanılan antikor, androstenedion için yüksek özgüllüğe sahiptir. Birkaç bağlantılı moleküle (Androsterone, 17 OH progesterone, cortisone vb) karşı düşük (<1%) çapraz reaktivite görülmüştür.

Kesinlik

Deneysel

Serum numuneler aynı çalışma içinde 25 kez test edildi. Değişkenlik katsayısı ≤%7,5 bulundu.

Testler arası

Serum numuneler 10 farklı çalışmada duplike olarak test edildi. Değişkenlik katsayısı ≤%11.3 bulundu.

Doğruluk

Dilüsyon testi

Yüksek konsantrasyonlu serum numuneleri sıfır kalibratör ile seri olarak dilüe edildi. Düzeltme oranı %81.6 ile %99.4 arasında bulundu.

Düzeltilme testi

Düşük-konsantrasyonlu serum numunelerine, bilinen miktarda androstenedion eklendi. Düzeltme oranı %93,0 ile %111 arasında bulundu.

Ölçüm sınırları (analitik duyarlılıktan en yüksek kalibratöre kadar): 0,05 ile yaklaşık 10,0 ng/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 kaçınılmalıdır.
- Çok hemolizli, sararmış ve lipemik numuneleri kullanmayınız.
- 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 Androstenedione RIA

REF DSL3800

НАБОР ДЛЯ РАДИОИММУНОЛОГИЧЕСКОГО КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНДРОСТЕНДИОНА В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ IN VITRO ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ

ПРИНЦИП

Радиоиммунологическое определение общего андростендиона (АСД, 4-Андростен-3,17-дион) относится к конкурентным видам анализа. Исследуемые образцы и калибровочные пробы инкубируют с ¹²⁵I-андростендионом в пробирках, покрытых антителами. Затем удаляют содержимое пробирок и измеряют связанную активность ¹²⁵I [1]. Концентрацию андростендиона определяют методом интерполяции по калибровочной кривой.

Теория и трактовка теста приведены в разделе «APPENDIX».

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Общие замечания:

- Для диагностики *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.
- Любый случай радиоактивного загрязнения или исчезновения радиоактивного материала должен рассматриваться в соответствии с законодательством.
- Утилизация радиоактивных отходов должна осуществляться в соответствии с законодательством.

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 GHS

Не классифицируется как опасное вещество

SDS

Паспорт безопасности доступен на сайте techdocs.beckmancoulter.com

ПОЛУЧЕНИЕ, ОБРАБОТКА, ХРАНЕНИЕ И РАЗВЕДЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

- Рекомендуются образцы сыворотки или плазма (с ЭДТА).
- Дождитесь полного свертывания образцов крови перед центрифугированием.
- Образцы мочи можно хранить при 2-8°C в течение 24 часов. Для более длительного хранения их следует разделить на аликвоты и заморозить при температуре <-18°C, до 1 года. Избегать повторного замораживания и оттаивания проб. Анализируемые образцы следует размораживать при комнатной температуре.
- Замороженные образцы перед использованием следует разморозить при комнатной температуре и тщательно перемешать, осторожно переворачивая или покачивая флаконы.
- Если концентрация андростендиона в образце превышает концентрацию максимальной калибровочной пробы, его следует разбавить дважды нулевой калибровочной пробой. Дальнейшее разбавление может привести к ошибочным результатам.

Используя набор DSL3800 ANDROSTENEDIONE RIA сравнили результаты исследований сыворотки и плазмы с ЭДТА в 20 образцах (диапазон значений в сыворотке от 0,50 до 2,07 нг/мл). Были получены результаты:

[плазма с ЭДТА] = 1,03 [сыворотка] - 0,03

R = 0.9758

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 после растворения и разбавления реагентов указаны в соответствующих разделах.

Пробирки, покрытые кроличьими антителами к андростендиону: 2 x 50 шт (готовы к использованию)

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

Метка, ¹²⁵I- андростендион: 1 флакон, 55 мл (готова к использованию)

На дату изготовления флакон содержит 185 кБк (<5 µCi), ¹²⁵I-андростен-диона в буфере с белком, азидом натрия (<0,1%).

Калибровочные пробы: 1 флакон (0) + 5 флаконов, (1- 5) (лиофилизированные препараты)

Калибровочные пробы содержат андростендион в диапазоне концентраций от 0 до приблизительно 10,0 нг/мл (0 до приблизительно 34,9 нмоль/л) в сыворотке крови человека с азидом натрия (<0,1%). Точные концентрации, указаны на этикетках флаконов. Растворить содержимое флаконов в объеме деионизированной воды, указанной на этикетке. Растворенные калибровочные пробы можно хранить при 2-8°C в течение 3 недель, или при <-20°C до окончания срока годности набора.

Значения калибровочных проб были получены с помощью внутреннего стандарта.

Контрольная сыворотка: 2 флакона (1, 2) (лиофилизированные)

Флаконы содержат лиофилизированный андростендион в сыворотке крови человека с азидом натрия (<0,1%). Ожидаемые диапазоны концентраций указаны на дополнительном листке-вкладыше. Растворить содержимое флаконов в объеме деионизированной воды, указанной на этикетке. Растворенные контрольные сыворотки 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 12 x 75 мм
- штативы для пробирок 12 x 75 мм.
- микропипетка (50 мкл)
- Деионизированная вода.
- полуавтоматическая пипетка (500 мкл)
- 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 ¹²⁵I.

РЕЗУЛЬТАТЫ

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

Калибровочная кривая

Результаты в отделе контроля качества были рассчитаны с использованием подбора кривой *взвешенной кубической регрессией* с V/T или V/B_0 по логит вертикальной оси и концентрацией анализа калибраторов на логарифмической горизонтальной оси (нг/мл).

$ED_{50} = 1,23$ нг/мл.

Другие методы обсчета могут давать несколько отличающиеся результаты.

Общий счет: 62 710 имп./мин.				
Калибраторы	Андр. (нг/мл)	Имп./мин. (n=3)	V/T (%)	V/B ₀ (%)
0	0	23 317	37,2	100
1	0,13	20 425	32,6	87,6
2	0,31	17 375	27,7	74,5
3	1,00	12 542	20,0	53,8
4	3,00	8 284	13,2	35,5
5	10,5	4 498	7,2	19,3

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

Образцы

Для каждого образца найти на вертикальной оси калибровочного графика значение V/T или V/B_0 , а на горизонтальной оси соответствующую концентрацию андростендиона в нмоль/л. Для перевода концентраций из нг/мл в нмоль/л нужно умножить полученный результат на 3,49.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В каждой лаборатории рекомендуется установить собственные уровни андростендиона, соответствующие нормальным. Приведенные ниже результаты определения нормальных значений получены в независимой лаборатории:

Популяция	N	Средняя	Диапазон значений	2,5-й – 97,5-й
				перцентиль
(нг/мл)				
Мужчины	132	1,15	0,62 - 3,12	0,64 - 2,97
Женщины	99	1,09	0,24 - 3,44	0,35 - 2,78
Женщины в постменопаузе	50	0,86	0,22 - 2,24	0,30 - 2,07

(более подробная информация приведена 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 нашим специалистам. E-mail: imunochem@beckman.com или beckman.ru@beckman.com

ПРОЦЕДУРА

Подготовка реагентов

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

Растворение калибровочных проб и контрольных сывороток

Растворить содержимое флаконов в объеме деионизированной воды, указанной на этикетке. Через 10 минут аккуратно перемешать, избегая образования пены.

Процедура анализа

Перед использованием довести все реагенты до комнатной температуры.

Стадия 1 Внесение реагентов*	Стадия 2 Инкубация	Стадия 3 Измерение результатов
В покрытые антителами пробирки последовательно внести: 50 мкл калибровочных проб, контрольных и анализируемых образцов и немедленно 500 мкл метки. Перемешать.	Инкубировать 1 час при 37°C на водяной бане.	Тщательно удалить содержимое всех пробирок (кроме проб «Т»). Одновременно переворачивая губчатый штатив над емкостью для радиоактивных отходов. Осушить на адсорбирующем материале более 2 минут и осторожно вытереть пробирки. Измерить связанную (В) и общую (Т) активность ¹²⁵ I в течение 1 мин.

*В две дополнительные пробирки внести по 500 мкл метки для оценки общей активности ¹²⁵I (пробы «Т»).

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

(более подробная информация приведена в разделе "APPENDIX")

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

Чувствительность

Аналитическая чувствительность: 0,05 нг/мл

Функциональная чувствительность: 0,09 нг/мл

Специфичность

Антитела, используемые в данном наборе, обладают высокой специфичностью к андростендиону. Перекрестная реакция с близкородственными молекулами (андростерон, 17ОН-прогестерон, кортизон итд.) чрезвычайно мала (<1%).

Воспроизводимость

Внутри анализа

Анализ образцов сыворотки проводили в 25 репликатах в пределах одной серии определений. Коэффициент вариации измеренных уровней андростендиона в сыворотке крови не превышал 7,5%.

Между анализами

Анализ образцов сыворотки в дубликатах проводили в 10 различных сериях определений. Коэффициент вариации измеренных уровней андростендиона в сыворотке крови не превышал 11,3%.

Точность

Тест на разведение

Величина «открытия» в серийно разведенных образцах сыворотки с высокой концентрацией андростендиона составила от 81,6% до 99,4%.

Тест на открытие стандартной добавки

В образцы сыворотки с низкой концентрацией гормона вносили известные количества андростендиона. Величина «открытия» составила от 93,0% до 111%.

Диапазон определений (от аналитической чувствительности до значения наивысшей калибровочной пробы): 0,05 до приблизительно 10,0 нг/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.
 - Не используйте гемолизированные, желтушные или липемические образцы.
 - 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 Androstenedione RIA

REF DSL3800

雄烯二酮放射免疫試劑組可提供血清或血漿中 Androstenedione (4-androsten-3,17-dione) 的定量測 此分析法適用於體外診斷用途

原理

本在放射免疫分析法的雄烯二酮（房間隔缺損，4雄烯-3,17-二酮）是一個競爭法。該過程遵循的基本原則，放射免疫法之間的競爭哪裡有放射性和非放射性的抗原固定數量的抗體結合位點。金額¹²⁵I標記]標記雄烯二酮到抗體的濃度成反比目前未標記雄[1]。分離的自由和約束抗原是通過調運或吸抗體包被管。標準曲線的構造和未知值是從曲線插值。

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
- 不要使用任何組件以外的到期日期顯示在其標籤。
- 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校準品和質控品，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。

材料來源是人類

病人的血液樣本和衍生產品可能是常規處理的風險降至最低使用過程所述。然而，處理這些產品，按照通用的潛在傳染病的預防措施和良好的臨床實驗室做法，不論其出身，治療，或事先認證。使用適當的消毒劑消毒。貯存和處置這些材料及其容器按照當地法規和準則。

GHS 危害分類

未分類為危險物質

SDS 安全性資料表載於 techdocs.beckmancoulter.com

檢體收集、處理、儲存、以及稀釋

- 血清或血漿（EDTA）建議樣品類型。
- 利用離心將血清或血漿與細胞分開。
- 若預計在24小時內進行分析，請將尿液檢體儲存於2-8°C的溫度下。若需較長期儲存，請分裝後冷凍儲存（低於-18°C，最長1年），避免重複的冷凍及解凍。等待直到樣品完全地被解凍並且使他們均勻在分析用試樣之前。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。
- 任何樣品讀數以上濃度的最高校準應適當稀釋與0毫微克/毫升校準和reassayed。

20個樣品的血清和EDTA血漿值(血清抽樣範圍從0.50到2.07 ng/mL)使用DSL3800 Androstenedione RIA成套試劑結果如下：

$$[\text{血漿}] = 1.03 [\text{血清}] - 0.03$$

$$R = 0.9758$$

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。

重製或稀釋後之試劑的儲存條件將於分析步驟的章節中加以說明。

抗雄烯二酮，塗層管：2 x 50管（立即可用）

塑料管與雄兔抗免疫球蛋白固定到各管內壁。

¹²⁵I-標記示踪雄烯二酮：—55毫升小瓶（立即可用）

當時的製造，管含有185貝克“（<5μCi）的¹²⁵I標記雄烯二酮與蛋白質和疊氮化鈉“（<0.1%）。

校準：一小瓶標記為0瓶和五個標記1-5（凍乾）

該校準器小瓶包含從0至大約10.0納克/毫升（0至大約34.9 nmol/L的）的人血清中雄與疊氮化鈉“（<0.1%）。確切的濃度為每小瓶標籤上標明。重製確實濃度標示於瓶子標籤上。重組後，儲存在2-8°C的長達3星期或<-20°C，直到截止日期的試劑盒。

校準值的建立使用內部標準。

質控品：每瓶，標籤為1,2（冷凍乾燥品）

雄的小瓶含有人體血清中疊氮化鈉“（<0.1%）。預期值是表示在一個補充工具包中找到。重製確實濃度標示於瓶子標籤上。重組後，儲存在2-8°C的長達3星期或<-20°C，直到截止日期的試劑盒。

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

- 12x75mm的塑料或玻璃試管，用於計算總計數。
- 12 x 75 mm試管用的試管架
- 精確的微量吸管(50 μL)
- 去離子水。
- 半自動吸管（500μL）
- 水浴，37 °C± 2 °C
- 用於傾倒用的多孔架或類似裝置。
- 擦乾試管的吸水性物品
- 適用¹²⁵I的迦瑪計數器

結果

結果是從標準曲線插值。該曲線是用於測定樣品中的濃度測定雄在同一時間作為校準器。

標準曲線

計算了質量控制部門的結果加權立方迴歸曲線擬合，其中B/T或B/B₀在logit垂直軸上，校準品的分析物濃度在對數水平軸上（ng/mL）。

ED₅₀為1.23毫微克/毫升

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。

Total activity: 62,710 cpm				
校正液	Andro. (ng/mL)	cpm (3次)	B/T(%)	B/B ₀ (%)
0	0	23,317	37.2	100
1	0.13	20,425	32.6	87.6
2	0.31	17,375	27.7	74.5
3	1.00	12,542	20.0	53.8
4	3.00	8,284	13.2	35.5
5	10.5	4,498	7.2	19.3

(標準曲線範例，請勿用此進行計算)

檢體

每個樣品找到比B/T或B/B₀在垂直軸的標準曲線和讀出相應的雄烯二酮濃度的樣品在水平軸毫微克/毫升。要轉換濃度從毫微克/毫升nmol/L的，結果乘以3.49。

預期數值

每個實驗室應建立自己的參考範圍。結果正常範圍內進行獨立的研究實驗室報告如下，並提供僅供參考。

人	N	Median	Min-Max	2.5th - 97.5th percentile
				(ng/mL)
男	132	1.15	0.62 - 3.12	0.64 - 2.97
女	99	1.09	0.24 - 3.44	0.35 - 2.78
絕經後女性	50	0.86	0.22 - 2.24	0.30 - 2.07

(有關更多細節，請參閱附件)

品質控制

良好實驗室規範要求，經常被用來控制樣品的質量，以確保所取得的成果。這些控制必須在完全一樣的處理方式與病人的樣本，並建議它們的結果進行分析，採用適當的統計方法。未取得相應的值不準確的操縱控制可能表明，樣品處理不當或變質的試劑。

如果遇到包裝破碎或所得結果出現一些偏差，請聯絡您的地區分銷商或使用這個E-mail地址：imunochem@beckman.com

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。

重組的校準和控制樣本

重製確實濃度標示於瓶子標籤上。等待10分鐘後輕輕地混合重組，以避免前發泡膠。

分析步驟

所有試劑在分注前需回到室溫

步驟一 加入*	步驟二 培養	步驟三 計數
向有抗體管中添加 50 µL的校正液、對照物 或檢體，以及立即加入 500 µL的追蹤劑， 然後用手用力混合	在37 ± 2°C. 培養 60 分	吸盡或傾倒出小管中的 液體(總cpm管除外)，將 整個試管架倒置，廢液 倒入放射性廢液缸內。 將試管架倒置放於吸水 材料上2分鐘以上，並 吸乾管壁上的液滴。 計算1分鐘內的結合 cpm(B)及總cpm(T)

*向額外的兩個試管中加入500 µL的標記物以獲得總cpm。

性能特色

(有關更多細節，請參閱附件)

提供代表的資料只為了說明用。每個實驗室所得到的結果都不同。

敏感度：

分析靈敏度：0.05 ng/mL

功能靈敏度：0.09 ng/mL

特異性

中使用的抗體是高度特異性的免疫雄。低“ (<1%) 交叉反應，得到的一些相關分子 (雄酮，17 羥基孕酮，可的松等) 。

精確度

各次分析內

樣品測定 25 次，在相同的運行。變異係數均≤7.5% (血清)。

各次分析間-

樣品一式兩份，分別測定了10種不同運行。變異係數均≤11.3% (血清)。

準確性

稀釋試驗

高濃度稀釋的血清樣品進行了連續零校準。回收率百分比介乎81.6 %至 99.4 % (血清)。

回收試驗

低濃度的血清樣品進行了加標與已知數量的雄烯二酮。回收率百分比介乎 93.0%至 111% (血清)。

測量範圍 (從分析到高靈敏度校準) : 0.05至大約10.0毫微克/毫升。

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。
- 不要使用嚴重溶血或脂血標本。
- 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 Androstenedione RIA

REF DSL3800

IMUNORADIOMETRIJSKI TEST ZA KVANTITATIVNO ODREĐIVANJE ANDROSTENDIONA U HUMANOM SERUMU ILI PLAZMI

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.

PRINCIP

Određivanje androstendiona (ASD, 4-androsten-3,17-dion) je kompetitivni test. Procedura prati osnovni princip radioimunometrijskih testova gde se odvija kometicija između radioaktivnog i ne-radioaktivnog antigena za fiksni broj vezujućih mesta. Količina [¹²⁵I] obeleženog androstendiona vezanog za antitelo je obrnuto proporcionalna koncentraciji prisutnog neobebeženog androstendiona. Separacija slobodnog i vezanog androstendiona se dobija dekantovanjem ili aspiracijom epruveta obloženim antitelom. Nakon prve inkubacije, sadržaj epruveta se pažljivo aspirira. Konstruiše se standardna kriva i nepoznate vrednosti androstendiona se određuju 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 komponenti iz pakovanja nakon datuma isteka roka koji je naznačen na nalepnici.
- Standardna kriva mora biti obuhvaćena sa svakim testom.
- Preporučeno je da se test vrši u duplikatu.
- Kalibratori i kontrole bi trebalo pomešati pre upotrebe pre pažljivim okretanjem nego mešanjem na vretenu.

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.

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

PRIKUPLJANJE UZORAKA, OBRADA, SKLADIŠTENJE I RAZBLAŽIVANJE

- Serum i plazma sa EDTA su preporučeni tipovi uzoraka.
- Sačekajte da uzorci seruma potpuno koagulišu pre centrifugiranja.
- Uzorci urina se mogu čuvati na 2-8 °C, ako se test izvodi u toku 24 časa. Za duže skladištenje držati ih zamrznutim na <-18°C najduže 1 godinu, nakon alikvotiranja kako bi se izbeglo ponovljeno zamrzavanje i odmrzavanje. Sačekati da se uzorci potpuno odmrznu i homogenizovati ih pre testiranja. Odmrzavanje uzorka trebalo bi izvoditi na sobnoj temperaturi.
- Zamrznute uzorke treba otopiti i temeljno pomešati nežnim obrtanjem ili okretanjem pre upotrebe.
- Ako uzorci imaju koncentraciju veću od najvećeg kalibratora, onda se oni moraju dva puta razblažiti u nultom kalibratoru. Svako dalje razblaženje dovodi grešaka u rezultatima.

Vrednosti seruma i EDTA plazme za 20 uzoraka (vrednosti seruma u rasponu od 0,50 do 2,07 ng/ml) su upoređeni korišćenjem DSL3800 Androstendion RIA testa. Rezultati su sledeći:

[EDTA-plazma] = 1.03 [serum] - 0.03

R = 0,9758

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 čuvanja za otvorene reagense su naznačeni u odgovarajućim poglavljima.

Epruvete obložene Anti-Androstendion antitelima: 2 x 50 epruveta (spremnih za upotrebu)

Plastične tube sa zečijim anti-androstendionskim imunoglobulinom imobilisanim na unutrašnjem zidu svake epruvete.

¹²⁵I obeležen Androstendion obeleživač: jedna 55 mL bočica (spremna za upotrebu)

Bočica sadrži 185 kBq, na dan proizvodnje, od ¹²⁵I-obebeženog androstendiona u puferu sa proteinima i, natrijum azidom (<0,1%),

Kalibratori: jedna bočica obeležena sa 0 i pet bočica obebeženih 1-5 (liofilizovane)

Bočice sadrže od 0 do približno 10,0 ng/mL (0 do približno 34,9 nmol/L) androstendiona u humanom serumu sa natrijum azidom (<0,1%). Tačna zapremina za rekonstituciju je navedena na svakoj etiketi bočice. Posle rekonstitucije, čuvati na 2-8°C do 3 nedelje ili na <-20°C do isteka roka trajanja testa.

Vrednosti kalibratora su određene korišćenjem internacionalnog standard.

Kontrolne: dve bočice obeležene 1,2 (liofilizat)

Bočice sadrže androstendion u humanom serumu sa natrijum azidom (<0,1%). Očekivane vrednosti su u opsegu koncentracije navedenim na dodatku. Tačna zapremina za rekonstituciju je navedena na svakoj etiketi bočice. Posle rekonstitucije, čuvati na 2-8°C do 3 nedelje ili na <-20°C do isteka roka trajanja testa.

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU OBEZBEĐENI

Pored standardne laboratorijske opreme, potrebne su sledeće stavke:

- 12 x 75 mm plastične ili staklene test epruvete za ukupan cpm.
- Rek za 12x75mm epruvete.
- Precizne mikropipete (50 µL).
- Dejonizovana voda.
- Poluautomatske pipete (500 µL).
- Vodeno kupatilo, 37°C ± 2°C.

- Sundešasti nosač ili slični uređaj za dekantovanje.
- Upijajući materijal za epruvete.
- Gama brojač za 125 jod.

REZULTATI

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

Standardna kriva

Izračunali su rezultati u odeljenju za kontrolu kvaliteta su upotrebom krive *ponderisane kubne regresije* (eng. weighted cubic regression) koja ima vrednosti B/T ili B/B_0 na logit vertikalnoj osi i koncentraciju analita kalibratora na logaritamskoj horizontalnoj osi (ng/ml).

$ED_{50}=1,23$ ng/mL.

Druge metode redukcije podataka mogu dati neznatno različite rezultate.

Ukupna aktivnost: 62.710 cpm				
Kalibratori	Andro. (ng/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B ₀ (%)
0	0	23.317	37,2	100
1	0,13	20.425	32,6	87,6
2	0,31	17.375	27,7	74,5
3	1,00	12.542	20,0	53,8
4	3,00	8.284	13,2	35,5
5	10,5	4.498	7,2	19,3

(Primer standardne krive, ne koristiti za proračun)

Uzorci

Locirati odnos B/T ili B/B_0 na veretikalnoj osi standardne krive, očitati odgovarajuću koncentraciju androstendiona u uzorku na horizontalnoj osi u ng/mL. Za pretvaranje koncentracija iz ng/mL u nmol/mL pomnožiti rezultat sa 3,49.

OČEKIVANE VREDNOSTI

Preporučljivo je da svaka laboratorija uspostavi svoje vlastite referentne vrednosti. Sledeće vrednosti, dobijene u nezavisnoj laboratoriji su samo indikativne.

Populacija	N	Srednji	Min-Maks	2.5-97.5. percentil
		(ng/mL)		
Osobe muškog pola	132	1,15	0,62 - 3,12	0,64 - 2,97
Osobe ženskog pola	99	1,09	0,24 - 3,44	0,35 - 2,78
Žene u postmenopauzi	50	0,86	0,22 - 2,24	0,30 - 2,07

Za više detalja pogledati DODATAK

KONTROLA KVALITETA

Pravila dobre laboratorijske prakse nalažu da se kontrolni uzorci redovno koriste kako bi se obezbedio kvalitet dobijenih rezultata. Ove kontrole se moraju obrađivati na potpuno isti način kao i uzorci pacijenta, a preporučuje se da se njihovi rezultati analiziraju upotrebom odgovarajućih statističkih metoda. Neuspešno dobijanje odgovarajućih vrednosti za kontrole može ukazivati na neprecizno korišćenje, nepravilno rukovanje uzorcima ili pogoršanje 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

POSTUPAK

Priprema reagenasa

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

Rekonstitucija kalibratora i kontrolnih uzoraka

Sadržaj bočica se rekonstituiše sa zapreminom destilovane vode navedenoj na etiketi. Sačekati najmanje 10 minuta i blago mešati da se izbegne penušanje pre nanošenja.

Postupak testa

Dovesti sve reagense na sobnu temperaturu pre pipetiranja.

Korak 1 Dodaci 1*	Korak 2 Inkubacija	Korak 3 Brojanje
U epruvete obložene antitelima sukcesivno dodati: 50 µL kalibratora, kontrole ili uzorka, Odmah dodati 500 µL obeleživača. Mešati energično rek rukom.	Inkubirajte 1 sat na 37°C u vodenom kupatilu.	Dekantovati ili aspirirati sve epruvete (izuzev epruvete za «ukupan cpm»), simultanim okretanjem sundešastog nosača u posudu za radioaktivni otpad. Oštro protresti i ostaviti da se ocedi na materijalu za apsorpciju za >2 min i blago osušiti epruvete. Brojati skok cpm (B) i ukupan cpm (T) za 1 min.

*Dodati 500 µL obeleživača u 2 dodatne epruvete radi dobijanja «ukupnog cpm».

KARAKTERISTIKE PERFORMANSI

Za više detalja pogledati DODATAK

Reprezentativni podaci su obezbeđeni u svrhu ilustracije. Performanse dobijene u pojedinačnim laboratorijama mogu da variraju.

Osetljivost

Analitička osetljivost: 0,05 ng/mL

Funkcionalna osetljivost: 0,09 ng/mL

Specifičnost

Antitelo upotrebljeno u imunotestu je visoko specifično za androstendion. Izuzetno niska (<1%) unakrsna reaktivnost je dobijena protiv nekoliko fragmenata (andosteron, 17OH progesterone, kortizon).

Preciznost

Unutar serije

Uzorci seruma su testirani 25 puta u istoj seriji. Ustanovljeni su koeficijenti varijacije manji ili jednaki ≤7,5%.

Između serija

Uzorci seruma su testirani u duplikatu u 10 različitih serija. Ustanovljeni su koeficijenti varijacije manji ili jednaki ≤11,3%.

Tačnost

Test razblaživanja

Uzorci seruma visoke koncentracije su serijski razblaživani sa nultim kalibratorom. Dobijeni recovery procenti su bili između 81,6% i 99,4%.

Recovery test

Uzorci seruma sa niskim koncentracijama su mešani sa poznatim količinama androstendion. Dobijeni recovery procenti su bili između 93,0% i 111%.

Opseg merenja (od analitičke osetljivosti do najvišeg kalibratora): 0,05 do približno 10,0 ng/mL.

OGRANIČENJA

- Ne pridržavanje instrukcija u ovom uputstvu pakovanja može značajno da utiče na rezultate.
- Nepravilno isušivanje epruveta nakon dekantovanja može dovesti do lose 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.
- Ne koriste se hemolizovani, ikterični ili lipemični uzorci.
- 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.

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

Androstenedione (ASD, 4-Androstene-3,17-dione), a C19 steroid, is produced in the adrenal gland and gonads. ASD is an immediate precursor to both testosterone and estrone, both of which may be subsequently converted to estradiol. Due to the presence of a 17-oxo (rather than hydroxyl) group, ASD has relatively weak androgenic activity, estimated at <20% of testosterone [2]. Although it is a weak androgen, serum ASD levels may exceed testosterone in both normal and disease states, ASD secretion and production rates exceed those of testosterone in women, and significant extra-adrenal conversion of ASD to testosterone occurs. Furthermore, the affinity of sex hormone-binding globulin for ASD is much less than for testosterone or estradiol [2, 3, 4].

The physiologic role of ASD is not well defined. Serum ASD levels are high in fetal and neonatal serum, decrease during childhood, and increase during puberty. In normal pubertal and adult men, the major portion of ASD is derived from the testis, either directly or from conversion of testosterone, while in normal adult women essentially equivalent amounts of ASD are produced by the adrenal gland and ovary [3, 4]. Increased ASD levels may play a role in the development of secondary sexual hair during adrenarche. Serum ASD levels show significant diurnal variation dependent on the secretion of ACTH. Ovarian ASD production is stimulated by luteinizing hormone, and serum ASD levels vary with the menstrual cycle [4]. Adrenal ASD production gradually declines with advanced age in both men and women. In addition, ovarian ASD production decreases after menopause [4].

Measurement of serum ASD provides a useful marker of androgen biosynthesis. Elevated ASD levels have been demonstrated in virilizing congenital adrenal hyperplasia; additionally ASD levels may have advantages over 17-hydroxy-progesterone levels in monitoring treatment of this condition, e.g. less marked diurnal variation and less suppression after brief glucocorticoid exposure [5]. Serum ASD levels are also increased in polycystic ovary syndrome, ovarian stromal hyperthecosis, 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase deficiency, and other causes of hirsutism in women [4,6,7]. By definition, ASD levels are normal in idiopathic hirsutism. Elevated serum ASD levels may also occur in adrenal and ovarian virilizing tumors [4].

In a prospective study of over 1000 men, a dose-response relationship of androstenedione and prostate cancer risk was demonstrated [8]; additional studies will be needed to confirm these findings. Assays for ASD include gas-liquid chromatography, mass spectrometry, and immunoassay. This ASD Assay Kit uses a specific and sensitive rabbit anti-human ASD polyclonal antiserum [6, 7, 9].

Sensitivity

The analytical sensitivity, or minimum detection limit, calculated by the interpolation of the mean minus two standard deviations of 10 replicates of the 0 ng/mL Androstenedione calibrator, is 0.05 ng/mL.

Specificity

The cross-reactivity of the androstenedione antiserum has been measured against various compounds. The percent cross-reactivity is expressed as the ratio of the androstenedione concentration to the concentration of the reacting compound at 50% binding of the 0 ng/mL calibrator.

COMPOUND	% CROSS-REACTIVITY	COMPOUND	% CROSS-REACTIVITY
Androstenedione	100	Corticosterone	0.04
Androsterone	0.33	Cortisol	0.04
17OH-Progesterone	0.25	Estrone	0.03
Cortisone	0.16	Pregnenolone	0.02
Isoandrosterone	0.10	Cholesterol	ND
Deoxycortisone	0.09	DHEA-sulfate	ND
Etiocholanolone	0.08	Estradiol	ND
5 α -Dihydrotestosterone	0.08	Estriol	ND
DHEA	0.07	17OH-Pregnenolone	ND
Progesterone	0.06		

ND – not detectable

Precision

Intra-assay

The intra-assay precision was determined from the mean of 25 replicates each with three serum and EDTA plasma samples.

Sample	Serum			EDTA plasma		
	S1	S2	S3	P1	P2	P3
Number of determinations	25	25	25	25	25	25
Mean value, ng/mL	0.51	0.94	8.10	0.55	0.93	7.89
C.V., %	7.46	5.42	5.06	6.14	6.57	5.94

Inter-assay

The inter-assay precision was determined from the mean of average duplicates for 10 separate runs with three serum and EDTA plasma samples.

Sample	Serum			EDTA plasma		
	S1	S2	S3	P1	P2	P3
Number of determinations	10	10	10	10	10	10
Mean value, ng/mL	0.27	0.66	6.71	0.38	1.15	9.18
C.V., %	11.32	6.31	4.12	12.44	7.19	6.70

Accuracy

Dilution test

Five human serum/EDTA-plasma samples were diluted twice with 0 ng/mL androstenedione calibrator and assayed.

Serum	Dilution factor	Measured (ng/mL)	Expected (ng/mL)	Ratio (%) Measured/Expected
S1	-	5.18	-	-
	1:1	2.33	2.59	89.96
S2	-	5.07	-	-
	1:1	2.52	2.54	99.41
S3	-	9.23	-	-
	1:1	3.93	4.62	85.16
S4	-	7.82	-	-
	1:1	3.19	3.91	81.59
S5	-	5.51	-	-
	1:1	2.25	2.76	81.67

EDTA plasma	Dilution factor	Measured (ng/mL)	Expected (ng/mL)	Ratio (%) Measured/Expected
P1	-	4.55	-	-
	1:1	1.92	2.28	84.40
P2	-	4.70	-	-
	1:1	1.98	2.35	84.26
P3	-	9.17	-	-
	1:1	4.18	4.59	91.17
P4	-	6.50	-	-
	1:1	2.85	3.25	87.69
P5	-	6.00	-	-
	1:1	2.53	3.00	84.33

Recovery test

Three serum/EDTA-plasma samples containing different levels of endogenous androstenedione were spiked with known amounts of androstenedione and assayed.

Serum	Endogen. (ng/mL)	Added (ng/mL)	Expected (ng/mL)	Measured (ng/mL)	Ratio (%) Measured/Expected
S1	1.20	0.35	1.55	1.72	110.6
	1.16	0.69	1.85	1.86	100.5
	1.13	1.00	2.13	2.30	108.1
S2	0.94	0.35	1.29	1.30	100.5
	0.91	0.69	1.60	1.59	99.57
	0.88	1.00	1.88	1.75	93.00
S3	0.30	0.34	0.64	0.64	100.2
	0.29	0.66	0.95	0.97	102.4
	0.28	0.95	1.24	1.31	106.0

EDTA plasma	Endogen. (ng/mL)	Added (ng/mL)	Expected (ng/mL)	Measured (ng/mL)	Ratio (%) Measured/Expected
P1	0.21	0.34	0.55	0.60	108.8
	0.21	0.66	0.86	0.86	99.71
	0.20	0.95	1.15	1.32	114.3
P2	0.31	0.34	0.65	0.69	106.4
	0.30	0.66	0.96	1.03	107.7
	0.29	0.95	1.25	1.41	113.2
P3	0.21	0.34	0.55	0.58	105.1
	0.21	0.66	0.86	0.90	104.3
	0.20	0.95	1.15	1.25	108.3

Expected values

Results of normal range studies are reported below and are provided for reference only.


Population	Age range	N	Median	Min - Max	2.5th - 97.5th percentile
(ng/mL)					
Males	20 - 67	132	1.15	0.62 - 3.12	0.64 - 2.97
	20 - 30	31	1.51	0.24 - 2.29	0.65 - 2.20
	31 - 40	38	1.29	0.66 - 2.93	0.67 - 2.56
	41 - 50	37	1.33	0.62 - 2.74	0.74 - 2.61
	51 - 67	26	1.15	0.62 - 3.12	0.64 - 2.97
Females	19 - 62	99	1.09	0.24 - 3.44	0.35 - 2.78
	19 - 30	25	1.47	0.61 - 3.44	0.67 - 3.05
	31 - 40	25	1.12	0.47 - 2.76	0.48 - 2.55
	41 - 49	25	1.17	0.71 - 2.97	0.72 - 2.28
	51 - 62	24	0.72	0.24 - 1.44	0.26 - 1.31
Postmenopausal female		50	0.86	0.22 - 2.24	0.30 - 2.07


Symbols Key

REF 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 / Reference k produktu / Referenčné označenie výrobku / 제품 참조 자료 / Úrün Referansı / Ссылка на продукт / Референция за продукт / 產品參考

IVD 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 diagnosztikai felhasználásra / Diagnostyka in vitro / Diagnostika in vitro / 체외 진단 / In Vitro Diagnostik / Diagnostika in vitro / Ин витро диагностика / 體外診斷


CONTENTS Contents / Contenu / Inhalt / Contenuto / Contenido / Conteúdo / Περιεχόμενο / 組成 / 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 / 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 / Conteúdo suficiente para "n" ensaios / Räckert till "n" antal tester / Περιεχόμενο επαρκές για "n" εξετάσεις / 含量足够 <n> 次测试 / Turinio pakanka <n> tyrim / <n> teszthez elegendő mennyiséget tartalmaz / 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 CE Mark / Marquage CE / CE-Kennzeichnung / Marchio CE / Mercado CE / Marcação CE / CE-märkning / Σήμανση CE / CE 标志 / CE ženklas / CE jelzés / Znak CE / Značka CE / Označenie CE / CE 표시 / CE İşareti / Маркировка CE / CE маркировка / CE 標識

SDS 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 / Skaitykite naudojimo instrukciją / Olvassa el a használati utasítást / Zapoznać się z instrukcją użycia / Postupujte podle návodu k použití / Prečítajte si návod na použitie / 사용 안내 문의 / Kullanma Talimatına Başvurun / Обратитесь к инструкциям / Вижте 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 / 溫度範圍 / Temperatūros diapazonas (-ai) / Hőmérséklet-tartomány(ok) / Zakres(y) temperatury / Rozsahy teplot / Rozsah(y) teploty / 온도 범위 / Стаклик аралıkları / Диапазон(-ы) температуры / Температурен(ни) диапазон(и) / 溫度範圍

 Caution / Précaution / Achtung / Attenzione / Precaución / Atenção / Försiktighet / Προσοχή / 注意事项 / Įspėjimas / Figyelem / Uwaga / Upozornění / Upozornenie / 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 / Galiojimo data / Lejárati idő / Data ważności / Datum expirace / Datum expirácie / 만료 날짜 / Son Kullanma Tarihi / Срок годности / Срок на годност / 到期日

LOT Lot Number / Numéro de lot / Chargennummer / Numero di lotto / Lote número / Número de lote / Satsnummer / Αριθ. παρτίδας / 批次号 / partijos numeris / Tételszám / Numer seri / Číslo sarže / 로트 번호 / Lot Numarasi / 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 / Datum Výroby / 제조 일자 / Üretim Tarihi / Дата Производства / Дата на Производство / 製造日期



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 / Blyojolik tehlike / Биологическая опасность / Биологична опасност / 生物危害



Radioactive / Radioactif / Radioaktiv / Radioattivo / Radiactivo / Radioactivo / Radioaktiv / Ραδιενεργό / 放射性 / Radioaktivioj medžiaga / Radioaktiv / Radioaktywny / Radioaktivní / Rádioaktívny / 방사성 / Radyoaktif / Радиоактивный / Радиоактивен / 具放射性



Tracer / Traceur / Tracer / Marcato / Trazador / Marcador / Tracer / Ανιχνευτής / 追踪剂 / Atsekamoji medžiaga / Nyomjelző / Znacznik / Radioindikátor / Indikátor (tracer) / 트래이서 / 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 / Controllo / Control / Controllo / Kontrolle / Μέτρηση / 质控品 / Kontrolliné / Kontroll / Kontrola / Kontrola / Kontrola / 정도관리 / Kontrol / Контроль / Контролна / 質控品



Tubes / tubes / Röhrchen / provette / tubos / Tubos de amostra / Provrör / σωληνάρια / 试管 / Mégintüveliai / Csövek / Probówki / Zkumavky / Skúmvavky / 튜브 / Tüpler / пробирки / Bulgarian / 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 / 使用說明

27 September 2017

REFERENCES

1. Yalow R, Berson S: Introduction and general considerations. IN: Odell WD and Daughaday WH, eds. Principles of Competitive Protein Binding Assays. J.B. Lippincott Co., Philadelphia, 1971, pp. 1-19.
2. Dorfman RI, Shipley RA: Androgens. John Wiley and Sons, New York, pp. 116-128, 1956.
3. Horton R, Tait J: Androstenedione production and interconversion rates measured in peripheral blood and studies on the possible site of its conversion to testosterone. J Endocrinol Invest 45:301-313, 1966.
4. Pang S, Riddick L: Hirsutism. IN Lifshitz F (ed): Marcel Dekker, Inc., New York, 1990, pp. 259-291.
5. Cavallo A, Corn C, Bryan GT, Meyer WJ III: The use of plasma androstenedione in monitoring therapy of patients with congenital adrenal hyperplasia. J Pediatr 95:33-37, 1979. Bull NY Acad Med 53, 347, 1977.
6. Rittmaster RS, Thompson DL: Effects of leuprolide and dexamethasone on hair growth and hormone levels in hirsute women: The relative importance of the ovary and adrenal in the pathogenesis of hirsutism. J Clin Endocrinol Metab 70:1096-1102, 1990.
7. Zwicker H, Rittmaster RS: Androsterone sulfate: Physiology and significance in hirsute women. J Clin Endocrinol Metab 76:112-116, 1993.
8. Barrett-Connor E, Garland C, McPhillips JB, Khaw KT, Wingard DL: A prospective population-based study of androstenedione, estrogens and prostatic cancer. Canc Res 50:159-173, 1990.
9. Rosen M, Nouri N, Alexander L: Evaluation of a direct assay for the measurement of androstenedione. Clin Chem 33:891, 1987.