Українська

Інструкція з використання

Вільний тестостерон ІФА

Імуноферментний аналіз для кількісного визначення Вільного Тестостерону в сироватці крові людини.

REF **DB52181**

Σ **12x8**

2-8°C

EU: IVD CE

I B L   I N T E R N A T I O N A L   G M B H

Flughafenstrasse 52a | Телефон: +49 (0)40-53 28 91-0 | IBL@IBL-International.com
D-22335 Гамбург, Німеччина | Факс: +49 (0)40-53 28 91-11 | www.IBL-International.com

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua www.ivset.ua

1. ПРИЗНАЧЕНЕ ВИКОРИСТАННЯ

Імуноферментний аналіз для кількісного визначення вільного тестостерону у сироватці крові людини.

2. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ І ПОЯСНЕННЯ

Тестостерон, С19-стероїд, є найефективнішим природним гормоном у сім'ї андрогенів. У чоловіків в основному виробляється в клітинах сіменників Лейдіга, лише невелика кількість продукується в корі наднирників. У цілому дорослі чоловіки мають в 10 - 20 разів вищу концентрацію тестостерону в плазмі, ніж самки. В кровообігу, основна частина тестостерону пов'язана з білками плазми, такими як глобулін, що зв'язує статевий гормон (SHBG) і альбумін.

Тестостерон відповідає за розвиток вторинних чоловічих статевих ознак та їх вимірювання, корисний при оцінці гіпогонадальних станів. У жінок високий рівень тестостерону, як правило, виявляється при гірсутизмі та вірилізації, полікістозних яєчниках, пухлинах яєчників, пухлинах наднирників та гіперплазії наднирників. У чоловіків високий рівень тестостерону пов'язаний з хворобами гіпоталамусної гіпофізної одиниці,

пухлинами яєчка, вродженою гіперплазією наднирників та раку передміхурової залози.

Низький рівень тестостерону може бути виявлений у пацієнтів з такими захворюваннями: гіпопітуїтаризм, синдром Клайнфельтера, фемінізація яєчка, орхіектомія та крипторхізм, ферментні дефекти та деякі аутоімунні захворювання.

Тестостерон циркулює в крові, зв'язаний з трьома білками: глобуліном, який зв'язує статевий гормон (60-80%),альбуміном та кортизол - зв'язуючим глобуліном. Лише близько 1-2% загального циркулюючого тестостерону залишається незв'язаним або вільним. Незважаючи на те, що він все ще знаходиться під дослідженнями, більшість дослідників приймають визначення вільного тестостерону як міру біологічно активної фракції. Безкоштовні визначення тестостерону рекомендовані подолати вплив, спричинений варіаціями транспортних білків у загальній сумі концентрації тестостерону.

3. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Твердофазний імуноферментний аналіз (ELISA) на основі принципу конкуренції. Невідома кількість антигенів, присутніх у зразку, і фіксована кількість антигену, міченого ферментом, конкурують за зв'язуючи ділянки антитіл, що покриті на лунках. Після інкубації лунки промивають, щоб зупинити конкурентну реакція. Після реакції субстрату інтенсивність розробленого кольору зворотно пропорційна кількості антигену у зразку. Результати зразків можна визначити безпосередньо з використанням стандартної кривої.

4. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

1.Тільки для діагностичного in-vitro використання. Тільки для професійного використання.

2. Перед початком аналізу уважно прочитайте інструкції. Використовуйте дійсну версію інструкції, вкладену в набір. Будьте впевнені, що все зрозуміло.

3. У випадку серйозного пошкодження пакету набора звертайтесь до IBL або вашого постачальника у письмовій формі, не пізніше ніж через тиждень після отримання набору. Не використовуйте пошкоджені компоненти під час тестування, але зберігання їх безпечно для вирішення питань, пов'язаних з скаргою.

4. Перевірте номер та дату закінчення терміну придатності. Не змішувати реактиви різних партій. Не використовуйте реагенти поза терміном придатності.

5. Дотримуйтесь належної лабораторної практики та правил техніки безпеки. Носити латексні рукавички, одноразові латексні рукавички та захисні окуляри, де це необхідно.

6. Реагенти цього набору, що містять шкідливий матеріал, можуть спричинити подразнення очей та шкіри. Дивіться МАТЕРІАЛИ НАДАНІ та мітки для деталей. Паспорти безпеки матеріалів для цього продукту доступні на IBL Homepage або за запитом безпосередньо від IBL.

7. Хімікати та підготовлені або використані реагенти повинні розглядатися як небезпечні відходи відповідно до національного законодавства щодо біологічної небезпеки та правил техніки безпеки.

8.Прибиральники повинні керуватися фаховими керівництвами щодо потенційних небезпек і поводження.

9. Деякі реагенти містять азид натрію (NaN_3) як консерванти. У разі контакту з очима або шкірою, промийте відразу з водою. NaN_3 може реагувати зі свинцевою та мідною водопровідною сіткою, щоб сформувати вибухонебезпечні металеві азиди.

Утилізуючи реагенти, промийте великим об'ємом води, щоб уникнути накопичення азиду.
10. Всі реактиви цього комплекту, що містять людську сироватку або плазму, були протестовані та були визнані негативними для анти-ВІЛ I / II, HBsAg і анти-HCV. Проте наявність цих чи інших інфекційних агентів не може бути виключено абсолютно . З цієї причини реагенти слід розглядати як потенційно біологічно небезпечні у використанні та для
утилізації.

5. ЗБЕРІГАННЯ І СТАБІЛЬНІСТЬ

Набір постачається при температурі навколишнього середовища та зберігається при 2-8 ° C. Тримайте подалі від нагрівання або прямого сонячного світла. Зберігання та стійкість зразків та підготовлених реагентів вказано у відповідних главах.
Стріпи мікропланшету стабільні до дати терміну придатності після відкриття набору. Переконайтеся, що відкритий пакет щільно закритий і зберігається при 2-8 ° C.

6. ЗАБІР ЗРАЗКІВ ТА ЗБЕРІГАННЯ

Сироватка

Звичайні запобіжні заходи для венепункції слід спостерігати. Важливо зберегти хімічну
цілісність зразка крові від моменту його збирання до моменту аналізу. Не використовуйте грубо гемолітичні, жовтяничні або грубо ліпемічні зразки. Можна використовувати NaN3, ProClin 300 або Тимеросал як Консервант. Зразки, що з'являються мутними, повинні бути центрифуговані перед аналізом для видалення будь-яких частинок матеріалу.

зберігання	2-8°C	≤ -20°C (аліквоти)	Тримайте подалі від нагрівання або прямого сонячного проміння. Уникайте повторних циклів заморожування відтавання . Транспортуйте зразки замороженими. Заморожені зразки повинні бути доставлені в кімнатну температуру повільно і змішані вручну перед піпетуванням. Не відтаювати будь-який зразок у водяній бані при 37 ° C
стабільність	48 годин	6 місяців	

7. МАТЕРІАЛИ НАДАНІ

кількість	позначення	компонент
1x12x8	**MTP**	**Мікропланшет.** Розбірні стріпи. Покриті з мишачим антитілом анти - тестостерону (моноклональне).
1x15 мл	**ENZCONJ**	Ферментний кон'югат Готовий до використання. Містить: тестостерон, кон'югований з HRP та стабілізатори.
1x6x1,0 мл	**CAL A-F**	Стандарт A-F 0 ;0,25;2,5;10;25;100 пг/мл Готовий до використання. Містить: тестостерон, людська сироватка, <0,1% ProClin300 і стабілізатори
1x2x1,0 мл	**CONTROL 1+2**	Контроль 1 + 2 Готовий до використання. Містить: тестостерон, людська сироватка, <0,1% ProClin300 і стабілізатори
1x15мл	**TMB SUBS**	ТМБ розчин субстрату Готовий до використання. Містить: TMB, буфер та стабілізатор
1x15 мл	**TMB STOP**	ТМБ стоп розчин. Готовий до використання. 1 М H_2SO_4
1x100мл	**WASHBUF CONC**	Промивний буфер концентрат (10x) Містить: фосфатний буфер, твін 20

8. МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕОБХІДНІ, АЛЕ НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ

1. Мікропіпетки (Multipette Eppendorf або аналогічні пристрої, <3% CV). Об'єм: 25; 50; 100; 150 і 250 мкл
2. Вихровий міксер
3. 8-канальна мікропіпетка з резервуарами реагентів
4. Промивна пляшка, автоматична або напівавтоматична система миття мікропланшетів
5. Інкубатор, 37 ° C
6.Рідер мікропланшетів, здатний визначати абсорбцію при 450 нм (референтна довжина хвилі 600-650 нм)
7. Бідистильована або дейонізована вода
8. Паперові рушники, наконечники для піпетки та таймер

9. ПРОЦЕДУРА ПРИМІТКИ

1. Будь-яке неправильне поводження із зразками або модифікація процедури випробувань може вплинути на результати. Вказані обсяги піпетування, час інкубації, температура та етапи попередньої обробки виконуються суворо згідно з інструкціями. Використовуйте тільки калібровані піпетки та прилади.
2. Після початку тесту всі кроки повинні бути завершені без перерви. Переконайтеся в тому, що необхідні реагенти, матеріали та прилади готуються в належний час. Дозволити всім реагентам і зразкам досягнути кімнатної температури (18-25 ° C) і обережно прокручують кожну ампулу рідкого реагенту і зразку перед використанням. Змішувати реагенти без спінювання.
3. Уникайте забруднення реагентів, піпеток та лунок / пробірок. Використовуйте нові одноразові наконечники для піпеток для кожного компоненту і зразку. Не обмінюйтеся ковпачками. Завжди закривайте флакони, які не використовуються. Не використовуйте повторно лунки / пробірки або реагенти.
4. Рекомендовано визначити зразки в двох примірниках, щоб мати змогу виявити потенційні помилки в піпетуванні.

5. Використовуйте схему піпетування для перевірки відповідного макета пластини.
6. Час інкубації впливає на результати. Всі лунки повинні оброблятися в однаковій послідовності порядку та часу. Рекомендується використовувати 8-канальну мікропіпетку для піпетування розчинів у всіх лунках.
7. Промивання мікропланшетів важливо . Неправильно промиті лунки дадуть помилкові результати. Рекомендується використовувати багатоканальну піпетку або автоматичну систему промивки мікропланшетів. Не дозволяти лункам висихати між інкубаціями. Не подряпайте лунки під час промивання та аспірації. Промийте і заповніть всі реагенти з обережністю. Під час промивання перевірте, чи всі лунки наповнені точно з промивним буфером і що в лунках немає залишків.
8. Вологість впливає на покриті лунки / пробірки. Не відкривайте пакет, поки він не досягне кімнатної температури.
Невикористані лунки / пробірки повинні бути негайно повернені в багаторазовий запечатаний пакет, включаючи осушувач.

10. ІНСТРУКЦІЇ ПЕРЕДТЕСТОВОГО НАЛАШТУВАННЯ

Вміст набору для 96 визначень можна розділити на три окремі цикли.
Наведені нижче обсяги знаходяться на одному пробігу з усіма стріпами (96 визначень).

10.1 Підготовка концентрованих компонентів

Розвести/ розчинити	компонент	з	розчинник	співвідношення	примітки	зберігання	стабільність
100 мл	**WASHBUF**	900 мл	Бідистильована вода	1:10	Змішати ретельно	2-8°C	8 тижнів

10.2. Розведення зразків

Попередня обробка зразка: немає
Зразки, які зчитуються більше ніж 100 пг / мл, не слід розбавляти. Розведення змінить рівновагу між вільним тестостероном та сироватковими білками.

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

1. Прокапати 25 мкл кожного Стандарту, Контролю та зразка у відповідні лунки мікропланшета.
2. Прокапайте 100 мкл ферментного кон'югату в кожну лунку.
3. Ретельно змішайте протягом 10 секунд.
4. Інкубуйте 1 годину при 37 ° С. Не накривайте планшет.
5. Промивайте планшет 3 х з 250 мкл розбавленого промивного буфера. Видаліть надмірний розчин, торкнувшись перевернутим планшетом паперового рушника.
6. Прокапайте 100 мкл розчину субстрату ТМБ у кожну лунку.
7. Інкубуйте 15 хв при кімнатній температурі (18-25 ° C).
8. Зупиніть реакцію субстрату, додаючи 100мкл ТМБ стоп розчину до кожної лунки.
Коротко змішуйте вміст, акуратно струшуючи тарілку. Колір змінюється від синього до жовтого кольору.
9. Вимірювати оптичну густину фотометром при 450 нм (референтна довжина хвилі: 600-650 нм) в межах 15 хвилин після піпетування Стоп розчину.

12. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Результати випробувань дійсні лише тоді, коли аналіз було виконано відповідно до інструкцій. Крім того, користувач повинен суворо дотримуватися правил GLP (належної лабораторної практики) або порівнянних стандартів / законів. Користувач і / або лабораторія повинна мати перевірену систему для отримання діагнозу згідно з GLP. Всі контролі повинні бути знайдені в межах прийнятного діапазону, як зазначено на етикетках та сертифікаті якості. Якщо критерії не виконуються, пробіг недійсний, і його слід повторити. Кожна лабораторія повинна використовувати відомі зразки як додаткові засоби контролю.

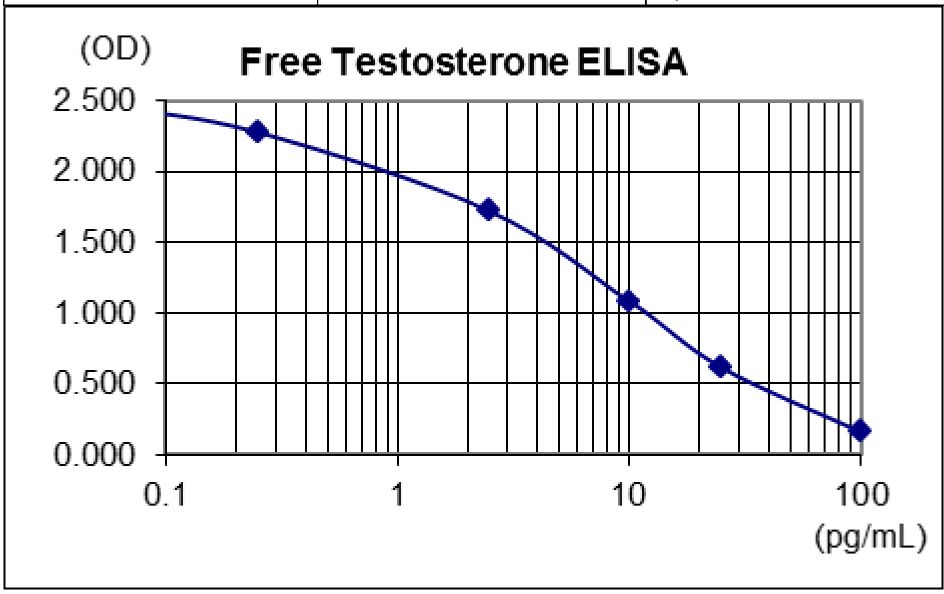
Рекомендується брати участь у відповідних випробуваннях з оцінки якості.
У разі будь-якого відхилення необхідно підтвердити такі технічні проблеми: Дата закінчення терміну придатності (підготовлених) реагентів, умови зберігання, піпетки, пристрої, умови інкубації та способи промивки.

13. РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Отримані ОГ стандартів (ось y, лінійні) накладаються на їх концентрацію (вісь x, логарифмічна)
або на напівлогарифмічний графічний папір, або за допомогою автоматизованого методу. Гарна відповідність забезпечується кубічним способом сплайн, 4 параметрів логістики або Logit-Log.
Для розрахунку стандартної кривої застосовується кожен сигнал стандартів (в разі явних відхилень даних одного з двох повторів від очікуваного допустимо використовувати більш акуратне значення).
Концентрацію зразків можна читати безпосередньо зі стандартної кривої.

Типова калібрувальна крива
(Приклад: не використовуйте для розрахунку!)

стандарт	Тестостерон Пг/мл	ОГ середнє	ОГ/ОГ макс (%)
A	0,0	2,477	100
B	0,25	2,278	92
C	2,5	1,722	70
D	10	1,088	44
E	25	0,615	25
F	100	0,162	7



14. Очікувані значення

Самі результати не повинні бути єдиною причиною будь-яких терапевтичних наслідків. Вони повинні бути співвіднесені з іншими клінічними спостереженнями та діагностичними тестами.

Очевидно здорові особи демонструють такі значення:

Жінки

вік	Кількість (179)	Середнє (пг/мл)	5-95 процентів (пг/мл)	Абсолютний діапазон (пг/мл)
<10	30	0,82	0,36-1,7	0,28-1,89
10-14	30	1,52	0,73-2,3	0,56-2,58
15-19	30	1,88	0,99-4,3	0,83-5,80
20-39	30	1,68	0,84-3,4	0,79-3,98
40-60	34	1,41	0,82-2,3	0,59-3,12
>60	25	1,05	0,66-2,1	0,27-2,33

Чоловіки

вік	Кількість (179)	Середнє (пг/мл)	5-95 процентів (пг/мл)	Абсолютний діапазон (пг/мл)
<10	30	0,59	0,31-1,3	0,16-1,7
10-14	30	1,62	0,82-15,4	0,67-18,0
15-19	27	16,8	8,3-21,6	2,3-23,3
20-39	32	14,6	7,0-22,7	2,9-28,1
40-60	32	10,8	6,3-17,8	5,8-21,0
>60	28	10,7	2,5-17,8	1,1-17,9

Рекомендується, щоб кожна лабораторія встановила свій діапазон нормальних значень.

15. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Збір та зберігання зразків значно впливають на результати випробувань. Дивіться ЗБІР І ЗБЕРІГАННЯ для деталей.

Для перехресна активність див. ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ.

Наступні компоненти крові не мають суттєвого ефекту (+/- 20% очікуваного) на результати тесту до вказаних нижче концентрацій:

Гемоглобін 5 мг / мл	NaN3 0,1%
Білірубін 5 мг / мл	ProClin 300 0,1%
Тригліцерид 91 мг / мл	тимеросал 0,01%

16.ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ

Аналітична чутливість (перехресна реактивність)	речовина	Перехресна реактивність (%)	Перехресна реактивність інших речовин проаналізована ≤ 0.1 %	
	Тестостерон (4-Androsten-17β-ol-3-one)	100,0		
	11β-гідроксі-тестостерон (4-Androsten-11β, 17β-diol-3-one)	8,67		
	11α-гідроксітестостерон (4-Androsten-11α, 17β-diol-3-one)	3,24		
	Дигідротестостерон (5α-Androstan-17ß-ol-3-one)	1,92		
	Андростендіон (4-Androstene-3,17-dione)	0,83		
	Метилтестостерон (4-Androsten-17α-methyl-17ß-ol-3-one)	0,44		
Аналітична чутливість (межа виявлення)	0,1 пг/мл	Середній сигнал (нульовий стандарт) -2СВ		
Функціональна чутливість	0,52 пг/мл	Середня концентрація < 20 % CV		
точність	Середня (пг/мл)	СВ (пг/мл)	CV(%)	кількість
В аналізі	1,7	0,2	12,3	20
	5,0	0,3	6,7	20
	25,5	1,1	4,4	20
Між аналізом	0,92	0,1	7,5	11
	2,10	0,2	7,4	11
	15,11	1,3	8,8	11
Метод порівняння	IBL-аналіз = 0.999 x RIA аналіз + 0.704		r = 0.972	n = 85

ВПЛИВ СЕКС-ЗВ'ЯЗУЮЧОГО ГОРМОНУ ГЛОБУЛІН (SHBG)

Мета даного дослідження полягала у вивченні можливих впливів, викликаних зв'язуванням SHBG з кон'югатом вільного тестостерону - пероксидази хрону. Басейн людської сироватки , очищений на активованому вугіллі, був збагачений точно з SHBG в концентраціях від 6 до 200 мкг / мл, і був оцінений за допомогою Прямого вільного тестостерону набір ІФА.

SHBG доданий (мкг/мл)	**ОГ 450 нм**	**B/B0(%)**
0	2,08	100
6,25	2,07	99,7
12,5	2,13	103
50	2,07	97,4
200	2,06	99,5

Результати показали зв'язувальні значення між 97-103% B / B0 (B0 = незбагачена сироватка) навіть при вищих, ніж Нормальний (0,5-5 мкг / мл) рівень SHBG. На закінчення, результати показали, що не було суттєвого впливу SHBG у наборі Прямого ІФА вільний тестостерон.

ВПЛИВ СИРОВАТКОВОГО АЛБУМІНУ ЛЮДИНИ (HSA - САЛ)

Метою даного дослідження було вивчення можливого впливу сироваткового альбуміну людини (HSA) на процедуру аналізу. HSA додавали до трьох зразків пацієнтів у концентраціях 1,25, 2,5 і 5,0 г / дл. Всі зразки досліджували за допомогою Прямого вільного тестостерону ІФА, і отримали наступні результати (в пг / мл):

зразок	Доданий **HSA –САЛ (г/дл)**			
	0	**1,25**	**2,5**	**5,0**
1	24,2	26,5	24,0	20,5
2	1,51	1,68	1,78	2,06
3	8,08	8,09	8,42	7,48

Результати не демонструють суттєвого впливу додавання HSA (САЛ) на три зразки сироватки пацієнта.

17. ЛІТЕРАТУРА

1. Andersen, O. M. (2003): Essential Role of the Apolipoprotein E Receptor-2 in Sperm Development. In Journal of Biological Chemistry 278 (26), pp. 23989–23995, checked on 10/03/2011.
2. Fritz, K. S.; McKean, A. J.; Nelson, J. C.; Wilcox, R. B. (2008): Analog-based free testosterone test results linked to total testosterone concentrations, not free testosterone concentrations. In Clin Chem 54 (3), pp. 512–516.
3. Nieschlag, E. (2005): Entwicklungsstand der hormonellen männlichen Kontrazeption. In Deutsches Ärzteblatt 102.
4. Selby, C. (1990): Sex hormone binding globulin: origin, function and clinical significance. In Ann. Clin. Biochem 27 (Pt 6), pp. 532–541.
5. Swerdloff, R. S.; Wang, C. (2008): Free testosterone measurement by the analog displacement direct assay: old concerns and new evidence. In Clin Chem 54 (3), pp. 458–460.
6. Vermeulen, A.; Stoïca, T.; Verdonck, L. (1971): The apparent free testosterone concentration, an index of androgenicity. In J. Clin. Endocrinol. Metab 33 (5), pp. 759–767.
7. Wheeler, M. J. (1995): The determination of bio-available testosterone. In Ann. Clin. Biochem 32 (Pt 4), pp. 345-357.
8. Winters, S. J.; Kelley, D. E.; Goodpaster, B. (1998): The analog free testosterone assay: are the results in men clinically useful? In Clin. Chem 44 (10), pp. 2178–2182.

УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

REF	№ Кат.:
LOT	№ Партії:
	Використати до:
	Кількість тестів:
CONC	Концентрат
LYO	Ліофілізований
IVD	Медичний пристрій для діагностики in vitro
	Оціночний набір
	Прочитайте інструкцію перед використанням
	Зберігати поодаль від джерел тепла і прямого сонячного світла.
	Зберігати при температурі:
	Виробник:
	Увага!
Умовні позначення компонентів див. у розділі «Матеріали, що входять до набору».	

СКАРГИ: Первинно скарги можна пред’явити в письмовому вигляді або усно. Згодом необхідно подати їх, включаючи хід дослідження та отримані результати, в письмовому вигляді, з аналітичних міркувань.
ГАРАНТІЯ: Гарантується відсутність у продукті дефектних матеріалів у межах відповідного терміну придатності, а також дотримання специфікацій, поданих разом із продуктом. Продукт слід використовувати за призначенням, відповідно до всіх інструкцій, наведених в інструкції з використання та в межах відповідного терміну придатності продукту. Будь-яка модифікація процедури аналізу, або обміну, або змішування компонентів різних партій може негативно вплинути на результати. Ці випадки анулюють будь-які вимоги про заміну.
ОБМЕЖЕННЯ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ: ЗА БУДЬ-ЯКИХ ОБСТАВИН РІВЕНЬ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ ВИРОБНИКА ОБМЕЖУЄТЬСЯ ЗАКУПІВЕЛЬНОЮ ВАРТІСТЮ ВКАЗАНОГО (-ИХ)НАБОРУ(ІВ) . ЗА ЖОДНИХ УМОВ ВИРОБНИК НЕ МАЄ НЕСТИ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ ЗА ВИПАДКОВІ ЧИ ПОБІЧНІ ЗБИТКИ, У ТОМУ ЧИСЛІ ВТРАТУ ПРИБУТКУ, ВТРАТУ ПРОДАЖ, ТРАВМИ ЛЮДЕЙ ЧИ ПОШКОДЖЕННЯ ВЛАСНОСТІ АБО ІНШІ ВИПАДКОВІ ЧИ НЕПРЯМІ ЗБИТКИ.

	IBL International GmbH	Тел .:	+ 49 (0) 40 532891 -0 Факс: -11
	Flughafenstr. 52A, 22335 Гамбург, Німеччина	E-MAIL:	IBL@IBL-International.com
		WEB:	http://www.IBL-International.com

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010,м.Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua, www.ivset.ua