

PATHOZYME® TESTOSTERONE Ref OD497

Test ImunoEnzimatic pentru determinarea cantitativă a Testosteronului în serul uman.

Depozitați la 2°C - 8°C. NU CONGELAȚI

Doar pentru diagnostic in-vitro.

INTRODUCERE

Testosteronul (17 β -hydroxiandrost-4-ene-3-on) este un steroid C19 cu o legătură nesaturată între C-4 și C-5, un grup ceton în C-3 și un grup hidroxil în poziția β la C-17. Acest hormon steroidian are o greutate moleculară de 288,4 daltoni. Testosteronul este cel mai important androgen secretat în sine. La bărbați testosteronul este secretat în principal de celulele Leydig din testicule; la femei aproximativ 50% din testosteronul circulant este derivat din conversia periferică a androstendionului, aproximativ 25% din ovare și aproximativ 25% din glandele suprarenale. Testosteronul este responsabil pentru dezvoltarea caracteristicilor sexuale secundare masculine și măsurarea sa ajută la evaluarea stării hipogonadice. La femei, nivelurile mari de testosteron sunt găsite în general în hirsutism și virilizare, ovare polichistice, tumori ovariene, tumora de suprarenale și hiperplazia adrenală. La bărbați, nivelurile mari de testosteron sunt asociate cu afecțiuni ale unității hipotalamo-hipofizare, tumori testiculare, hiperplazie congenitală de suprarenale și cancer de prostată. Niveluri scăzute de testosteron pot fi găsite la pacienții cu următoarele afecțiuni: Hipopituitarism, sindromul Klinefelter, feminizare testiculară, Orhiectomie și Criptorhidism, defecte enzimatice și unele boli autoimune.

UTILIZARE

PATHOZYME TESTOSTERONE un test ImunoEnzimatic (EIA) pentru determinarea cantitativă a Testosteronului total în serul uman. A fi folosit doar de personalul medical.

PRINCIPLE OF THE TEST

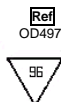
PATHOZYME TESTOSTERONE se bazează pe principiul legării competitive între Testosteronul din proba de testat și Coniugatul Testosteron-HRP și o cantitate constantă de anticorpi de iepure anti-Testosteron. În cursul incubăției, godeurile de care sunt fixate anticorpi de capră anti-IgG iepure sunt incubate cu Standarde, Controlle Testosteron, probe de la pacient, Reactiv Coniugat Testosteron-HRP și Reactiv iepure anti-testosteron. În cursul incubării, o cantitate fixă de Testosteron marcat cu HRP intră în competiție cu Testosteronul endogen din standarde, probă sau serul de control pentru un număr fix de locuri delegare a anticorpului specific pentru Testosteron. În acest fel, cantitatea de coniuugat Testosteron peroxidază legat imunologic de godeu scade progresiv pe măsură ce concentrația de Testosteron din probă crește.

Coniugatul Testosteron HRP nelegat este apoi îndepărtat iar godeurile sunt spălate. Se adaugă apoi o soluție TMB, ceea ce va duce la apariția unei culori albastre.

Dezvoltarea culorii este oprită prin adăugarea de soluție de stopare, după care se măsoară absorbanta spectrofotometric la 450nm. Intensitatea culorii formate este proporțională cu cantitatea de enzimă prezentă și este invers proporțională cu cantitatea de Testosteron nemarcat din probă. Se obține o curbă standard a concentrației Standardului în raport cu absorbanta. Concentrația de Testosteron a probelor și controalelor rulate simultan cu Standardele poate fi calculată din curba standard.

Acest test a fost calibrat cu standarde interne. Pentru acest test nu există standarde internaționale.

CONȚINUT



Microtitre Plate	12 x 8 godeuri x 1
Godeuri detașabile "căptușite" cu anticorpi specifici, conținute într-o pungă resigilabilă de folie care conține și un desicant.	
Cal A	0 ng/ml 0.5 ml
Standard Referință: Ser uman fără Testosteron. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal B	0.1 ng/ml 0.5 ml
Standard Referință: Testosteron diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal C	0.5 ng/ml 0.5 ml
Standard Referință: Testosteron diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal D	2.0 ng/ml 0.5 ml
Standard Referință: Testosteron diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal E	6.0 ng/ml 0.5 ml
Standard Referință: Testosteron diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Cal F	18.0 ng/ml 0.5 ml
Standard Referință: Testosteron diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Control 1	Nivel marcat pe flacon 0.5 ml
Testosteron de nivel cunoscut diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Control 2	Nivel marcat pe flacon 0.5 ml
Testosteron de nivel cunoscut diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)	
Ab REAG Testosterone	7 ml
Reactiv Iepure anti-Testosteron. Gata de lucru (Roz)	
Conj	11 ml
Testosteron coniuugat de Peroxidază Hrean. Gata de lucru. (albastru)	
Subs TMB	11 ml
Soluție Substrat: 3,3', 5,5' Tetrametil Benzidină în Tampon citrat. Gata de lucru. (Incolor)	
Soln Stop HCl 1M	11 ml
Soluție Stopare: Acid clorhidric diluat în apă purificată. Gata de lucru. (Incolor)	
Broșură instrucțiuni și fișa de înregistrare date EIA	1 + 1

MATERIALE NECESARE DAR CARE NU SUNT PREZENTE ÎN KIT

Micropipete: 100 μ l, 200 μ l și 1000 μ l
Virfuri de pipetă de unică folosință
Incubator: temperatură 37°C \pm 1°C
Hirtie absorbantă
Cititor de microplaci cu filtru de 450nm
Hirtie milimetrică
Sticlărie de laborator foarte curată.

PRECAUȚIUNI

PATHOZYME TESTOSTERONE conține materiale de origine umană care au fost testate și confirmate negative prin proceduri aprobate de FDA pentru anticorpi HCV, HIV I și II și pentru HbsAg, la nivel de donor unic. Deoarece nici un test nu poate oferi o garanție completă că produsele derivate din surse umane nu vor transmite agenți infecțioși, se recomandă ca reactivii din acest kit să fie manipulați cu grijă și atenția corespunzătoare atât în timpul utilizării cit și când sunt deșeurii. Nu ingerați.

Reactivii **PATHOZYME TESTOSTERONE** nu conțin substanțe periculoase așa cum sunt definite de legislația Chimică a Marii Britanii (Informații și Ambalare substanțe periculoase pentru Furnizare). Toți reactivii trebuie totuși tratați ca substanțe cu potențial risc biologic atât când sunt folosite cit și când sunt deșeurii. Rezolvarea finală a deșeurilor trebuie făcută în conformitate cu legislația locală.

Soluția de Stopare **PATHOZYME TESTOSTERONE** este acid clorhidric diluat și este deci corozivă. Manipulați cu grijă. În caz de contact cu tegumentul spălați cu grijă cu apă.

Reactivii **PATHOZYME TESTOSTERONE** conțin Proclin™ 300* în concentrație de 1% ca și conservant. Este toxică atunci când este ingerată. În caz de contact, spălați bine cu apă de la robinet și consultați un medic.
* Proclin™ 300 este o marcă înregistrată a ROHM & HAAS Limited.

STORAGE

Reactivii trebuie depozitați la temperaturi de 2°C - 8°C.

Data expirării este ultima zi a lunii menționate pe eticheta recipientului și pe ambalajul kit-ului. Performanța kit-ului va fi cea specificată până la data expirării menționată așa cum este determinată de la data producerii și după cum este menționat pe kit și componentele acestuia. Nu folosiți reactivii după data expirării.

Evitați expunerea reactivilor la temperatură excesivă. Nu expuneți reactivii la lumina directă a soarelui.

NU CONGELAȚI NICI UN REACTIV (cu excepția depozitării standardelor) deoarece acesta va fi iremediabil alterat.

RECOLTAREA ȘI PREGĂTIREA PROBEI

Recoltați o probă de sînge venos de la pacient și lăsați să se formeze și retracte cheagul. Centrifugați proba de sînge coagulat și colectați serul limpede. Este nevoie de ser proaspăt. Nu folosiți pentru teste ser hemolizat, contaminat sau lipemic deoarece acestea va influența nedorit rezultatele. Serul poate fi depozitat la 2°C - 8°C timp de 48 de ore înainte de testare. Dacă este nevoie de depozitare pe durată mai lungă, puteți păstra serul la -20°C pe o durată de 1 an. Probele decongelate trebuie amestecate bine înainte de a fi utilizate. Nu folosiți ca și conservant Azida sodică deoarece aceasta va inhiba sistemul enzimatic Peroxidază. Nu congelați-decongelați în mod repetat probele – veți obține rezultate false.

PREGĂTIREA REACTIVILOR

Toți reactivii trebuie lăsați să ajungă la temperatura camerei (20°C-25°C) și amestecați ușor înainte de utilizare. Evitați formarea spumei.

LIMITELE UTILIZĂRII

Folosirea altor tipuri de probe, altele decît serul nu a fost validată pentru acest test. Nu există protocol de reutilizare pentru acest produs. Atunci cînd faceți interpretarea testului este recomandat să luați în considerare toate datele clinice. Diagnosticul nu trebuie să fie stabilit doar pe baza rezultatelor unui singur test clinic.

PROCEDURA DE TESTARE

- Aduceți toate componentele kit-ului și serul de testat la temperatura camerei (20°C-25°C) înainte de a începe testarea.
- Se recomandă rularea unui set de standarde la fiecare procesare de probe. Fixați numărul dorit de godeuri în stativ. Înregistrați poziția standardelor și a serului de testat pe Fișa de Înregistrare a Datelor EIA.
- Stripurile nefolosite trebuie resigilate în punga de folie conținând desicant și plasate apoi la 2°C - 8°C.
- Pipetați 10μl de Standarde, ser de testat și controale în godurile respective.
- Pipetați 100μl de Conjugat Testosteron HRP în fiecare godeu.
- Pipetați 50μl de Reactiv iepure anti-Testosteron în fiecare godeu. Amestecați bine 30 de secunde. Este foarte important să amestecați complet. Plasați placa într-o cutie umedă pe o bucată de hirtie absorbantă umedă.
- Incubați la 37°C timp de 90 de minute.
- La sfârșitul perioadei de incubare, aruncați conținutul godeurilor răsturnând brusc conținutul plăcii cu partea superioară în jos deasupra unui container de deșuri cu risc biologic și apoi loviți placa (cu partea superioară în jos) pe o bucată de hirtie absorbantă. Aveți grijă ca în recipientul pentru deșuri să se afle un dezinfectant corespunzător.
- Spălare Manuală. Umpleți godeurile cu minimum 300μl de apă distilată pentru fiecare godeu. Într-o cutie umedă, aruncați brusc placa deasupra recipientului de deșuri biologice. Loviți placa de hirtie absorbantă.
- Loviți din nou placa (cu partea superioară în jos) de o bucată de hirtie absorbantă pentru a îndepărta toate picăturile de apă reziduală.
- Spălare Automată: controlați ca 300μl de apă distilată să fie pipetați în fiecare godeu și ca în recipientul cu deșuri să fie adăugat un dezinfectant potrivit. Spălați godeurile de 5 ori. După ce spălați, îndepărtați excesul de lichid lovind placa inversată de o hirtie absorbantă pentru a îndepărta toate picăturile de apă reziduală.
- Pipetați 100μl de Soluție Substrat în fiecare godeu și amestecați ușor timp de 5 secunde.
- Incubați la întuneric timp de 20 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
- Opriti reacția adăugând 100μl de Soluție de Stopare în fiecare godeu.
- Amestecați ușor timp de 30 de secunde pentru a asigura virarea completă și imediată a culorii albastre în galben.
- Citiți imediat densitatea optică (pînă în 10 minute) folosind un cititor de microplăci cu un filtru de 450nm.

EVITAREA ERORILOR

Poate fi folosit de personalul cu minimă pregătire bazică de laborator.

Nu folosiți componente ale kit-ului care sunt deteriorate sau contaminate.

Folosiți un vîrf de pipetă de unică folosință pentru fiecare probă pentru a preveni contaminarea încrucișată.

Deși nu este necesară se recomandă rularea probelor și standardelor în duplicat.

Probele și standardele trebuie rulate simultan pentru a avea condiții de testare similare.

Se recomandă să nu folosiți mai mult de 32 de godeuri odată atunci cînd pipetați manual, deoarece pipetarea Standardelor și probelor trebuie să fie completă în decurs de 3 minute. Se poate folosi o placă completă de 96 de godeuri doar dacă este disponibilă pipetarea automată.

Puneți la loc capacul pe recipientele cu reactivi imediat după utilizare.

Evitați pipetarea repetată din reactivii de stoc, deoarece se poate produce contaminare.

Nu amestecați reactivii sau stripurile provenind de la kit-uri diferite. Atunci cînd pipetați aveți grijă să nu atingeți suprafața godeului. Nu pipetați reactivul pe partea laterală a godeului. Înainte de începutul testării, lăsați reactivii să ajungă la temperatura camerei (20° - 25°C). Amestecați ușor toți reactivii cu mișcări blînde de rotație.

Odată testarea pornită, godeurile nu trebuie să se usuce în cursul derulării testului.

Nu contaminați Soluția Substrat deoarece kit-ul va deveni nefuncțional.

Controlați precizia și acuratețea echipamentului de laborator folosit în timpul procedurii pentru a asigura rezultate reproductibile.

Strip-urile nefolosite ar trebui re-sigilate în punga de folie care conține desicant și apoi depozitate la 2°C - 8°C.

CALCULAREA REZULTATELOR

Calculați valoarea absorbăntei medii (A_{450}) pentru fiecare set de Standarde, Controale și probe. Creați o curbă standard făcînd un grafic cu absorbănta medie pentru fiecare Standard în funcție de concentrația în ng/ml pe hirtie milimetrică, cu valorile absorbăntei pe axa Y și concentrațiile pe axa X. Folosiți valorile absorbăntei medii pentru fiecare probă pentru a determina concentrația corespunzătoare de Testosteron în ng/ml din curba standard. Dacă nivelurile Controalelor sau ale probelor cu valori cunoscute nu dau rezultatele scontate, rezultatele testului trebuie considerate invalide. Dacă folosiți un pachet software alegeți o curbă de regresie quadratică care să se potrivească.

VALORI PREDICȚIONATE ȘI SENSIBILITATE

Graficul produs de calibratorii trebuie să aibă o formă hiperbolică cu densitatea optică (DO) citită la 450 nm invers proporțională cu concentrația lor. DO a calibratorului A trebuie să fie mai mare de 1,5 iar DO a calibratorului F mai mare de 0,75 pentru ca rezultatele testului să fie valide.

Fiecare laborator trebuie să stabilească propriul domeniu normal plecînd de la populația de pacienți. **PATHOZYME TESTOSTERONE** a fost folosit pentru evaluare cu probe selectate aleator prelevate într-o policlinică. Rezultatele acestor determinări sunt următoarele

Bărbați:	Prepubertate (tîrzie)	0,01-0,2ng/ml
	Adult	3,0-10,0ng/ml
Femei:	Prepubertate (tîrzie)	0,1-0,2ng/ml
	Fază foliculară	0,2-0,8ng/ml
	Fază luteală	0,2-0,8ng/ml
	Post-Menopauză	0,08-0,35ng/ml

SENSIBILITATE

Cel mai mic nivel detectabil de Testosteron cu acest test este de 0,06ng/ml.

SPECIFICITATE

Următoarele materiale au fost controlate pentru reactivitate încrucișată. Procentajul indică reactivitatea încrucișată pentru deplasare 50% comparat cu Testosteron. Date cu privire la reactivitatea încrucișată pentru cîțiva steroizi endogeni și farmaceutici au fost adunate în următorul tabel:

Reactivitate încrucișată(%)=	Concentrație Testosteron Observată x 100	
	Concentrație Steroizi	
Steroizi	Reactivitate încrucișată	
Testosteron	100%	
Dihidrotestosteron	0,86%	
Androstenedion	0,89%	
Androsteron	1,0%	
17β Estradiol	0,05%	
Progesteron	<0,05%	
Epitestosteron	<0,05%	
17-OH-Progesteron	<0,05%	
Estriol	<0,05%	
Cortisol	<0,05%	
DHEA-Sulfat	<0,05%	

DATE DE EVALUARE

Calibrat cu competitorii importanți și cu standarde interne.

Coefficientul de variație **PATHOZYME TESTOSTERONE** este mai mic decît sau egal cu 10%.

În cursul unei evaluări dintre kit-ul Pathozyme Testosterone produs de Omega și kit-ul AURICA produs de DRG, cu probe avînd niveluri cuprinse între 0,2 ng/ml lu 11,57 ng/ml au fost generate următoarele date.

Număr de probe	106
Coefficientul de Corelație	0,9068
Pantă	0,8397
Intercept	0,5732
Medie Omega	3,6 ng/ml
Medie DRG	3,6 ng/ml

Între kit-uri există o bună corelație.

BIBLIOGRAFIE

- Chen A, Bookstein, J.J., Meldrum, D.R.** Diagnosis of a testosterone-secreting adrenal adenoma by selective venous catheterisation. Fertil. Steril. 55(6): 1202-1203, 1991.
- Yen S.S.C.** Chronic anovulation caused by peripheral endocrine disorders. In: Yen S.C.C. and Jaffe R.B. (eds): Reproductive Endocrinology Chapter 17, W.B. Saunders. Philadelphia, 1991.
- Granoff, A.B. and Abraham, G.E.** Peripheral and adrenal venous levels of steroids in a patient with virilising adenoma. Obstet. Gynaecol. 53:111, 1979.
- Bricaire, C., Raynaud, A., Benotmane, A., Clair, F., Paniel, B., Mowszowicz, I., Wright, F., Moreau, J.F., Kutten, F., Mauvais-Jarvis, P.** Selective venous catheterisation in the evaluation of hyperandrogenism. J. Endocrinol. Invest. 14(11): 949-956; 1991.
- Heinonen, P.K.** Androgen production by epithelial ovarian tumours in post-menopausal women. Maturitas, 13(2): 117-133; 1991.
- Tietz, N.W.** Clinical Guide to Laboratory Tests, Third Edition, p578-580. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1995.

GHID RAPID AL PROCEDURII DE TESTARE

- Pipetați 10μl de Standarde, ser de testat sau controale în fiecare godeu.
- Pipetați 100μl de Conjugat Testosteron HRP în fiecare godeu.
- Pipetați 50μl de anticorpi anti-Testosteron de iepure. Amestecați ușor timp de 30 de secunde.
- Incubați 90 minute la 37°C.
- Aruncați conținutul godeurilor și spălați de 5 ori cu apă distilată.
- Adăugați 100μl de Soluție Substrat în fiecare godeu și amestecați ușor în 5 secunde.
- Incubați placa la întuneric timp de 20 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
- Adăugați 100μl de Soluție de Stopare în fiecare godeu și amestecați ușor timp de 30 de secunde.
- Citiți Densitatea Optică imediat (nu mai tîrziu de 10 minute) folosind un cititor de microplăci cu un filtru de 450nm.

8099 ISSUE 3 Revised May 2003 ROMANIAN
© Omega Diagnostics Ltd., 2003



OMEGA DIAGNOSTICS LTD.
Omega House, Hillfoots Business Village
Alva FK12 5DQ, Scotland, United Kingdom
odl@omegadiagnostics.co.uk
www.omegadiagnostics.com
AN ISO 9001 AND ISO 13485 CERTIFIED COMPANY