



Li StarFish S.r.l.
Via Cavour, 35 - 20063 Cernusco S/N (MI), Italy
Tel. +39-02-92150794 - Fax. +39-02-92157285
info@listarfish.it - www.listarfish.it



Testosterone ELISA

CE

IVD

REF

DEM-DE1559



96

Contents / Inhaltsverzeichnis / Contenuti / Contenido

1	INTRODUZIONE	16
2	PRINCIPIO DEL TEST	16
3	PRECAUZIONI	16
4	COMPONENTI DEL KIT	17
5	CAMPIONI	18
6	ATTUAZIONE DEL TEST	18
7	VALORI NORMALI	20
8	CONTROLLO QUALITÀ	20
9	CARATTERISTICHE DEL TEST	20
10	LIMITAZIONE DEL TEST	21
11	ASPETTI LEGALI	21
12	BIBLIOGRAFIA	21

1 INTRODUZIONE

Il test immuno-enzimatico DEMEDIATEC Testosterone ELISA contiene materiale per la determinazione quantitativa di testosterone in siero e plasma.

Questo test kit è adatto soltanto per l'uso diagnostico.

2 PRINCIPIO DEL TEST

Il test Testosterone ELISA è un test immunologico in fase solida con enzimi ancorati su un substrato (ELISA), basato sul principio del legame competitivo.

I micropozzetti sono ricoperti con un anticorpo monoclonale diretto contro un unico sito antigenico della molecola testosterone. Testosterone endogeno/a di un campione compete con il testosterone coniugato alla perossidasi di rafano per il sito di legame sull'anticorpo ancorato nel micropozzo. Dopo l'incubazione il coniugato non legato è lavato via.

La quantità della perossidasi coniugata legata è inversamente proporzionale alla concentrazione di testosterone nel campione. Dopo l'aggiunta della soluzione substrato l'intensità del colore sviluppato è inversamente proporzionale alla concentrazione di testosterone nel campione del paziente.

3 PRECAUZIONI

- Questo kit è adatto soltanto per l'uso diagnostico in vitro.
- Si prega di usare la versione valida dell'inserito del pacco a disposizione con il kit.
- Informazioni su sostanze pericolose contenute nel kit sono riportate nel regolamento di sicurezza.
- Tutti i componenti del kit che contengono siero o plasma umano sono controllati e confermati negativi per la presenza di HIV I/II, HbsAg e HCV con metodi conformi alle norme FDA. Ciononostante tutti i componenti dovrebbero essere trattati come potenziali sostanze nocive nella manutenzione e nello smaltimento.
- Il contatto con la *Stop Solution* dovrebbe essere evitato perché contiene 1 N acidic solution. L'acido solforico può provocare irritazioni cutanee e ustioni.
- Non pipettare con la bocca ed evitare il contatto con componenti del kit con la pelle o con le mucose.
- Nelle aree in cui il test viene utilizzato non fumare, mangiare, bere o fare uso di prodotti cosmetici.
- Nella manutenzione dei campioni o reagenti del kit portare guanti di latex monouso. La contaminazione dei reagenti o dei campioni con microbi può dare risultati falsi.
- L'utilizzo dovrebbe avvenire secondo regole che seguono le rispettive norme di sicurezza nazionali sulle sostanze nocive.
- Non utilizzare i reagenti dopo la scadenza indicata sul kit.
- Ogni indicazione sulla quantità indicata del protocollo del kit deve essere accuratamente seguito. Risultati ottimali possono essere ottenuti soltanto con l'uso di pipette calibrate e spettrofotometro calibrato.
- Componenti del kit con numeri di lotto diversi non devono essere combinati. È consigliabile di non utilizzare pozzetti di piastre diversi, anche se si tratta dello stesso lotto. I kit potrebbero essere stati magazzinati o spediti a condizioni diverse, cosicché le caratteristiche di legame potrebbero divergere leggermente.
- I componenti chimici e reagenti preparati o già utilizzati devono essere trattati e smaltiti secondo le norme di sicurezza nazionali sulle sostanze nocive.
- I regolamenti di sicurezza di questo prodotto possono essere richiesti direttamente dalla ditta Demeditec Diagnostics. I regolamenti di sicurezza corrispondono alle norme EU 91/155 EC.

4 COMPONENTI DEL KIT

4.1 Contenuto del kit

1. **Microtiterwells** (Micropozzetti), 12x8 file (separatamente staccabili), 96 pozzetti
Pozzetti ricoperti con l'anti- testosterone anticorpo (monoclonale)
2. **Standard (Standard 0-6)**, 7 flaconi, 1 mL, pronto all'uso
Concentrazioni: 0 – 0,2 – 0,5 – 1 – 2 – 6 - 16 ng/mL
Conversione: ...1 ng/mL = 3,467 nmol/L
Contiene 0.03% Proclin 300 + 0,005% gentamicin sulfate come conservante.
3. **Enzyme Conjugate** (Tracciante enzimatico), 1 flacone, 25 mL, pronto all'uso;
Testosterone coniugato alla perossidasi di rafano
* Contiene 0.03% Proclin 300, 0,015% BND e 0,010% MIT come conservante.
4. **Substrate Solution** (Soluzione di substrato), 1 flacone, 25 mL, pronto all'uso
TMB (benzidine tetrametilico)
5. **Stop Solution** (Soluzione d'arresto), 1 flacone, 14 mL, pronto all'uso;
contiene 1 N acidic solution
Evitare il contatto con la soluzione d'arresto. Può causare irritazioni cutanee e ustioni.
6. **Wash Solution** (Soluzione di lavaggio), 1 flacone, 30 mL (concentrata 40X)
vedi „preparazione dei reagenti“

- * BND = 5-bromo-5-nitro-1,3-dioxane
MIT = 2-methyl-2H-isothiazol-3-one

Nota: Ulteriore *Standard 0* per la diluizione dei campioni può essere richiesto alla ditta.

4.2 Materiali richiesti ma non contenuti nel kit

- Uno spettrofotometro calibrato per micropozzetti (450±10 nm)
- Micropipette calibrate di precisione a volume variabile.
- Carta assorbente.
- Acqua distillata.

4.3 Magazzinaggio e stabilità del kit

A 2-8°C i reagenti non aperti rimangono reattivi fino alla data di scadenza indicata. Non usare reagenti oltre questa data.

Tutti i reagenti aperti devono essere magazzinati a 2-8°C. I micropozzetti devono essere magazzinati a 2 °C - 8 °C. Una volta aperti i pacchi, questi devono essere richiusi accuratamente.

4.4 Preparazione dei reagenti

Prima dell'uso portare tutti i reagenti e il numero necessario di pozzetti a temperatura ambiente.

Wash Solution

Diluire 30 mL della soluzione di lavaggio concentrata con 1170 mL di acqua deionizzata fino ad un volume finale di 1200 mL. *La soluzione di lavaggio diluita è stabile per 2 settimane a temperatura ambiente.*

4.5 Smaltimento del kit

Lo smaltimento del kit deve avvenire secondo le regole a norma di legge. Informazioni particolareggiate per questo prodotto si trovano nel regolamento di sicurezza, capitolo 13.

4.6 Test kits danneggiati

Nel caso di gravi danneggiamenti del kit o dei suoi componenti deve avvenire una dichiarazione scritta alla ditta DEMEDIATEC, al più tardi una settimana dopo il ricevimento del kit. Componenti danneggiati non dovrebbero essere utilizzati per il test. Questi componenti devono essere magazzinati fino alla soluzione del problema. Dopo di che essi devono essere smaltiti secondo le norme ufficiali.

5 CAMPIONI

Siero o plasma (EDTA-, Eparina- or citrate plasma) può essere usato per questo test.

Non usare campioni emolitici, itterici o lipemici.

Attenzione: Se i campioni contengono sodio azide non devono essere utilizzati per questo test.

5.1 Collezione dei campioni

Siero:

Collezionare sangue tramite puntura venale (p.es. Sarstedt Monovette # 02.1388.001), far coagulare e separare il siero centrifugando a temperatura ambiente.

Non centrifugare prima che la coagulazione sia completata. Campioni di pazienti con una terapia anticoagulante possono richiedere più tempo per la coagulazione.

Plasma:

Il sangue dovrebbe essere collezionato in tubetti da centrifuga contenenti un anticoagulante e centrifugando immediatamente dopo la puntura.

(P.es. per EDTA plasma Sarstedt Monovette – red cap - # 02.166.001; per eparina plasma Sarstedt Monovette – orange cap - # 02.165.001; per citrate plasma Sarstedt Monovette – green cap - # 02.167.001.)

5.2 Magazzinaggio dei campioni

I campioni dovrebbero essere magazzinati ben chiusi fino a 5 giorni a 2-8 °C.

Campioni magazzinati per un periodo più lungo dovrebbero essere congelati solo una volta a -20 °C prima dell'analisi. Congelare soltanto una volta. Invertire campioni scongelati alcune volte prima dell'uso.

5.3 Diluizione dei campioni

Se in un campione di siero viene trovata una concentrazione oltre lo standard più alto, questo campione può essere diluito con lo *Standard 0* e nuovamente determinato.

Della diluizione deve essere però tenuto conto.

Esempio:

- a) diluizione 1:10: 10 µL siero + 90 µL *Standard 0* (agitare bene)
- b) diluizione 1:100: 10 µL della diluizione a) + 90 µL *Standard 0* (agitare bene).

6 ATTUAZIONE DEL TEST

6.1 Indicazioni generali

- Tutti i reagenti e i campioni devono essere portati a temperatura ambiente e ben mescolati prima dell'uso. Evitare la formazione di schiume.
- Una volta iniziato il procedimento del test, questo deve essere portato alla fine senza interruzione.
- Per ogni componente, standard, controllo o campione è necessario utilizzare una nuova punta monouso per evitare reazioni incrociate.
- La densità ottica dipende dal tempo d'incubazione e dalla temperatura. Perciò si rende necessario di preparare tutti i reagenti, di aprire i tappi dei flaconi e di appostare tutti i pozzetti nelle appropriate posizioni. Soltanto una tale preparazione garantisce gli stessi tempi per ogni processo di pipettamento.
- Come regola generale vale che la reazione enzimatica si svolge linearmente proporzionale con il tempo e con la temperatura.

6.2 Esecuzione del test

Ogni analisi deve includere una curva standard.

1. Fissare i pozzetti necessari sul supporto.
2. Pipettare **25 µL** di ogni *Standard*, *Control* e campione nei pozzetti, cambiando ogni volta la punta monouso.
3. Pipettare **200 µL** *Enzyme Conjugate* in ogni pozzetto.
Agitare bene per 10 secondi. È molto importante raggiungere un completo mescolamento.
4. Incubare per **60 minuti** a temperatura ambiente
5. Rovesciare la piastra per vuotare i pozzetti.
Lavare i pozzetti 3 volte con soluzione di lavaggio diluita (400 µL in ogni pozzetto). Rimuovere le gocce d'acqua rimanenti rivoltando la piastra su carta assorbente.

Importante:

La sensibilità e la precisazione di questo kit sono fortemente influenzate dal corretto esecuzione del lavaggio!

6. Aggiungere **200 µL** della *Substrate Solution* ad ogni pozzetto.
7. Incubare per **15 minuti** a temperatura ambiente.
8. Fermare la reazione enzimatica aggiungendo **100 µL** della *Stop Solution* ad ogni pozzetto.
9. Determinare la densità ottica a **450 ± 10 nm** con un fotometro per microtiter-piastre **entro 10 minuti** dopo l'aggiunta della *Stop Solution*.

6.3 Rilevamento dei risultati

1. Determinare i valori medi della densità ottica per ogni set di standard, controlli e campioni.
2. Costruire una curva standard: riportare i valori medi della densità ottica (OD) di ogni standard contro la rispettiva concentrazione dove i valori delle OD si devono trovare sull'asse verticale (Y) e le concentrazioni sull'asse orizzontale (X).
3. Utilizzando il valore medio delle OD per ogni campione si determina la rispettiva concentrazione dalla curva standard.
4. Metodo automatico: I risultati in IFU sono stati calcolati automaticamente usando un (fitting) avvicinamento con il 4 PL (4 Parameter Logistics). Altri funzioni usati per l'elaborazioni dei dati possono dare risultati leggermente differenti.
5. La concentrazione dei campioni può essere determinata direttamente dalla curva standard. Campioni con una concentrazione più elevata dello standard più concentrato devono essere diluiti. Di questo fattore di diluizione deve essere tenuto conto per il calcolo della concentrazione.

6.3.1 Esempio di una curva standard

I seguenti dati sono a scopo dimostrativo soltanto e **non possono** sostituire i dati generati dall'esecuzione del test.

Standard	Densità ottiche (450 nm)
Standard 0 (0 ng/mL)	2,1
Standard 1 (0,2 ng/mL)	1,71
Standard 2 (0,5 ng/mL)	1,44
Standard 3 (1 ng/mL)	1,18
Standard 4 (2 ng/mL)	0,89
Standard 5 (6 ng/mL)	0,46
Standard 6 (16 ng/mL)	0,24

7 VALORI NORMALI

È consigliabile che ogni laboratorio determini i propri valori normali e anormali.

In uno studio condotto su persone apparentemente sane usando il test DEMEDIATEC Testosterone ELISA i seguenti valori sono stati ottenuti:

Popolazione	5% Percentile	95% Percentile
Uomini	2,0 ng/mL	6,9 ng/mL
Donne	0,26 ng/mL	1,22 ng/mL

8 CONTROLLO QUALITÀ

È consigliabile utilizzare i campioni controllo secondo le norme di legge. Attraverso l'utilizzo dei campioni controllo si può raggiungere una verifica dei risultati giorno per giorno. Dovrebbero essere adoperati campioni controllo sia con un livello normale sia con uno patologico.

Le referenze con i rispettivi risultati del laboratorio QC sono elencati nel QC certificato, che è allegato al kit. I valori riportati nel QC certificato si riferiscono al lotto del kit attuale e dovrebbero essere utilizzati per un raffronto dei risultati.

È altresì consigliabile di partecipare a programmi di sicurezza sulla qualità nazionali o internazionali, per assicurarsi dell'esattezza dei risultati.

Appropriati metodi statistici per l'analisi dei valori controllo e delle rappresentazioni grafici dovrebbero essere adoperati. Nel caso che i risultati del test non combaciano con il campo di accettazione indicato dal materiale di controllo, i risultati dei pazienti devono essere considerati invalidi. In questo caso si prega di controllare i seguenti fattori d'errore: pipette, cronometri, fotometro, data di scadenza dei reagenti, condizione di magazzinaggio e d'incubazione, metodi di aspirazione e di lavaggio.

Se dopo il controllo dei suddetti fattori non è rilevabile alcun errore, si prega di contattare il fornitore o direttamente la ditta DEMEDIATEC.

9 CARATTERISTICHE DEL TEST

9.1 Assay Dynamic Range

Le concentrazioni determinabili con questo test stanno tra 0,083 – 16 ng/mL.

9.2 Specificità degli anticorpi (reazioni ad incrocio)

Per dettagli più precisi consultare la metodica in inglese.

9.3 Sensitività

La sensitività analitica è stata calcolata dai valori medi meno due deviazioni standard di venti (20) repliche dello *Standard 0* ed erano 0,083 ng/mL.

9.4 Precisione

Per dettagli più precisi consultare la metodica in inglese.

9.5 Ritrovato

Per dettagli più precisi consultare la metodica in inglese.

9.6 Linearità

Per dettagli più precisi consultare la metodica in inglese.

10 LIMITAZIONE DEL TEST

Ogni manutenzione impropria dei campioni o modificazione del protocollo può influenzare I risultati.

10.1 Sostanze interferenti

Emoglobina (fino a 4 mg/mL), bilirubina (fino a 0,25 mg/mL) e trigliceridi (fino a 7,5 mg/mL) non influenzano i risultati di questo test.

10.2 Droghe interferenti

Fino ad oggi nessuna sostanza (farmaco) è conosciuta a noi che abbia influenzato la determinazione di testosterone nel campione.

10.3 Effetto Hook di alti dosaggi

Nessun effetto gancio (effetto hook) è stato osservato in questo test.

11 ASPETTI LEGALI

11.1 Affidabilità dei risultati

Il test deve essere eseguito esattamente secondo il protocollo dato dal produttore. Inoltre l'utente deve seguire le regole del GLP (Good Laboratory Practice) o eventualmente altre regole comportamentali o disposizioni legali. Questo vale soprattutto per l'uso delle referenze. È molto importante utilizzare un numero appropriato di referenze in parallelo ai campioni test per poter controllare l'esattezza e la precisione del test. I risultati del test sono validi soltanto se tutte le referenze cadono nei margini prestabiliti e se tutti gli altri parametri del test soddisfano la specificazione per questo test. Se esistono dubbi o domande su questi risultati, si prega di contattare la ditta DEMEDIATEC.

11.2 Conseguenze terapeutiche

Soltanto sulla base dei risultati dei laboratori non dovrebbero essere intraprese delle conseguenze terapeutiche di alcun tipo, anche se i risultati del test sono d'accordo con gli aspetti articolati nel punto 11.1. Ogni risultato di laboratorio è soltanto una parte di un quadro clinico completo di un paziente. Soltanto in casi in cui i risultati di un test del laboratorio si accordano con il quadro clinico dell'ammalato, si possono intraprendere delle conseguenze terapeutiche. Il risultato del test da solo non è base sufficiente per lo stabilimento di una terapia.











11.3 Responsabilità legali

Ogni cambiamento del protocollo del test e/o lo scambio o il mescolamento di componenti provenienti da cariche diverse possono influenzare negativamente i risultati e compromettere la validità del test. Questi cambiamenti e/o scambi annullano ogni diritto al risarcimento. Si respingano inoltre tutti i richiami risultanti da interpretazioni sbagliate da parte dell'utente secondo il paragrafo 11.2. Nel caso di reclamazione, la garanzia del produttore è limitato al valore massimo del test kit. Ogni danno provocato durante il trasporto del kit non sottostà alla responsabilità del produttore.

12 BIBLIOGRAFIA

Per dettagli più precisi consultare la metodica in inglese.

SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ELISAS

Symbol	English	Deutsch	Français	Español	Italiano
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las Instrucciones	Consultare le istruzioni per l'uso
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	Usage Diagnostic in vitro	Para uso Diagnóstico in vitro	Per uso Diagnostica in vitro
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Seulement dans le cadre de recherches	Sólo para uso en investigación	Solo a scopo di ricerca
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Référence	Número de catálogo	No. di Cat.
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	No. de lot	Número de lote	Lotto no
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Température de conservation	Temperatura de conservación	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeitsdatum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
<i>Distributed by</i>	Distributor	Vertreiber	Distributeur	Distribuidor	Distributore
<i>Content</i>	Content	Inhalt	Contenu	Contenido	Contenuto
<i>Volume/No.</i>	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Numéro	Volumen/Número	Volume/Quantità
<i>Microtiterwells</i>	Microtiterwells	Mikrotiterwells	Plaques de microtitration	Placas multipocillo	Micropozzetti
<i>Antiserum</i>	Antiserum	Antiserum	Antisérum	Antisuero	Antisiero
<i>Enzyme Conjugate</i>	Enzyme Conjugate	Enzymkonjugat	Conjugué enzymatique	Conjugado enzimático	Tracciante enzimatico
<i>Enzyme Complex</i>	Enzyme Complex	Enzymkomplex	Complexe enzymatique	Complex enzimático	Complesso enzimatico
<i>Substrate Solution</i>	Substrate Solution	Substratlösung	Solution substrat	Solución de sustrato	Soluzione di substrato
<i>Stop Solution</i>	Stop Solution	Stopplösung	Solution d'arrêt	Solución de parada	Soluzione d'arresto
<i>Zero Standard</i>	Zero Standard	Nullstandard	Zero Standard	Estándar cero	Standard zero
<i>Standard</i>	Standard	Standard	Standard	Estándar	Standard
<i>Control</i>	Control	Kontrolle	Contrôle	Control	Controllo
<i>Assay Buffer</i>	Assay Buffer	Assaypuffer	Tampon d'essai	Tampón de ensayo	Tampone del test
<i>Wash Solution</i>	Wash Solution	Waschlösung	Solution de lavage	Solución de lavado	Soluzione di lavaggio
<i>1N NaOH</i>	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH (idrossido di sodio 1N)
<i>1 N HCl</i>	1 N HCl	1 N HCl	1N HCl	1 N HCl	
<i>Sample Diluent</i>	Sample Diluent	Probenverdünnungsmedium	Solution pour dilution de l'échantillon	Solución para dilución de la muestra	Diluyente dei campioni
<i>Conjugate Diluent</i>	Conjugate Diluent	Konjugatverdünnungsmedium	Solution pour dilution du conjugué	Solución para dilución del conjugado	Diluyente del tracciante

Li StarFish distribuisce: