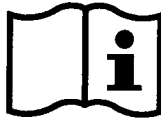


# Product information



Distribuito in ITALIA da  
**Li StarFish S.r.l.**  
Via Cavour, 35  
20063 Cernusco S/N (MI)  
telefono 02-92150794  
info@listarfish.it  
www.listarfish.it

# Dihydrotestosterone (DHT) ELISA



**REF** DE5761

 **96**



Demeditec Diagnostics GmbH  
Lise-Meitner-Strasse 2  
24145 Kiel – Germany  
www.demeditec.com

**Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit.  
 Verwenden Sie nur die jeweils gültige, im Testkit enthaltene, Gebrauchsanweisung.  
 Si prega di usare la versione valida delle istruzioni per l'uso a disposizione con il kit.  
 Por favor, use sólo la versión válida de las instrucciones de uso que se suministran con el kit.  
 Utilisez seulement la version valide des Instructions d'utilisation fournies avec le kit.  
 Utilize apenas a versão válida das Instruções de Utilização fornecidas com o kit.**

<b>Introduced modifications / Durchgeführte Änderungen / Modifiche introdotte / Modificaciones introducidas / Modifications apportées / Modificações introduzidas</b>	
<p>The following changes have been made in comparison to the previous version:            Im Vergleich zur Vorgängerversion wurden folgende Änderungen vorgenommen:            Rispetto alla versione precedente, sono state apportate le seguenti modifiche:            Se han introducido los siguientes cambios en comparación con la versión anterior:            Les modifications suivantes ont été apportées par rapport à la version précédente :            Foram efetuadas as seguintes alterações em comparação com a versão anterior:</p>	
<p><b>Detailed editorial revision.</b> Changed wording in several chapters.  <b>Ausführliche redaktionelle Überarbeitung.</b> Geänderter Wortlaut in mehreren Kapiteln.  <b>Revisione editoriale dettagliata.</b> Modificato il testo in diversi capitoli.  <b>Revisión editorial detallada.</b> Se ha cambiado la redacción de algunos capítulos.  <b>Révision éditoriale détaillée.</b> Modification de la formulation dans plusieurs chapitres.  <b>Revisão editorial detalhada.</b> Texto alterado em vários capítulos.</p>	
1 INTENDED USE:	More definitions for intended use and use not intended.
4.1 Materials provided with the kit:	For standards information of used reference material (Cerilliant D-073) added. Indication of color (green) for Enzyme Conjugate 10X. Conjugate Diluent is dyed red now (old: colorless).
4.4 Reagent Preparation:	Correction for diluted Wash Solution: Stability is 1 week at RT (old: 2 weeks)
5 SAMPLE COLLECTION, STORAGE AND PREPARATION:	Addition of EDTA plasma (before EDTA was excluded);
5.2 Samples Storage:	Long-time storage at -20 °C increased to 12 months (before : 2 months)
6.3.1 Example of Typical Standard Curve:	Updated
7 REFERENCE VALUES:	Correction of 97.5 <sup>th</sup> percentile for men to 913 pg/mL (before the 99 <sup>th</sup> percentile (1204 pg/mL) was listed.)
9.2 Sensitivity:	Addition of LoD
9.5 Linearity:	Changed presentation of results.

**Table of Contents / Inhaltsverzeichnis / Tabella dei Contenuti / Tabla de Contenidos /  
Table des matières / Índice**

1 INTENDED USE .....	4	1 FINALIDAD PREVISTA .....	32
2 PRINCIPLE OF THE TEST .....	4	2 PRINCIPIO DEL TEST .....	32
3 WARNINGS AND PRECAUTIONS .....	5	3 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES .....	32
4 MATERIALS.....	6	4 MATERIAL .....	34
5 SAMPLE COLLECTION, STORAGE AND PREPARATION .....	8	5 TOMA DE LA MUESTRA, ALMACENAMIENTO Y PREPARACIÓN .....	36
6 ASSAY PROCEDURE.....	8	6 PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO .....	37
7 REFERENCE VALUES .....	10	7 VALORES DE REFERENCIA.....	39
8 QUALITY CONTROL.....	10	8 CONTROL DE CALIDAD.....	39
9 PERFORMANCE CHARACTERISTICS.....	11	9 CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO .....	40
10 LIMITATIONS OF THE PROCEDURE .....	12	10 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO .....	40
11 LEGAL ASPECTS .....	13	11 CUESTIONES LEGALES .....	40
1 ZWECKBESTIMMUNG .....	14	1 DESTINATION.....	42
2 TESTPRINZIP.....	14	2 PRINCIPE DU TEST .....	42
3 WARNUNGEN UND VORSICHTSMAßNAHMEN.	14	3 AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS .....	42
4 MATERIALIEN.....	16	4 MATÉRIAUX.....	44
5 ENTNAHME, LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER PROBEN .....	18	5 PRÉLÈVEMENT, STOCKAGE ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS.....	45
6 TESTDURCHFÜHRUNG.....	18	6 PROCÉDURE DE DOSAGE .....	47
7 REFERENZWERTE .....	20	7 VALEURS DE RÉFÉRENCE.....	49
8 QUALITÄTSKONTROLLE .....	20	8 CONTRÔLE DE QUALITÉ .....	50
9 LEISTUNGSMERKMALE .....	21	9 CARACTERISTIQUES EN MATIERE DE PERFORMANCES .....	50
10 GRENZEN DES VERFAHRENS .....	21	10 LIMITES DE LA PROCÉDURE .....	50
11 RECHTLICHE GRUNDLAGEN .....	21	11 ASPECTS JURIDIQUES .....	51
1 DESTINAZIONE D'USO .....	23	1 FINALIDADE PREVISTA.....	52
2 PRINCIPIO DEL TEST .....	23	2 PRINCÍPIO DO TESTE .....	52
3 AVVERTENZE E PRECAUZIONI.....	23	3 ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES .....	53
4 MATERIALI.....	24	4 MATERIAIS.....	54
5 PRELIEVO, CONSERVAZIONE E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI .....	26	5 COLHEITA, ARMAZENAMENTO E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS.....	56
6 PROCEDURA DEL DOSAGGIO .....	27	6 PROCEDIMENTO DE TESTE.....	57
7 VALORI DI RIFERIMENTO .....	29	7 VALORES DE REFERÊNCIA.....	59
8 CONTROLLO DI QUALITÀ .....	30	8 CONTROLO DE QUALIDADE.....	60
9 CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI.....	30	9 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO .....	60
10 LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA .....	30	10 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO .....	60
11 ASPETTI LEGALI .....	31	11 ASPETOS LEGAIS.....	61
		12 REFERENCES / LITERATURE.....	62

## 1 INTENDED USE

The **DEMEDIATEC Dihydrotestosterone ELISA DE5761** is a manual enzyme immunoassay for the **quantitative** measurement of total 5 $\alpha$  Dihydrotestosterone (DHT) in human serum or plasma (EDTA, Li-heparin or citrate plasma).

**For *in vitro* diagnostic use. For laboratory professional use.**

The device is **intended to be used** as an aid to diagnosis of hypogonadism in men, virilization in women, deficiencies in steroid metabolism (e.g. 5-alpha-reductase deficiency), and monitoring of hormone replacement therapy for individuals where information on one or more of the following is required:

the specific information that is intended to be provided in the context of:

- a physiological or pathological state;
- congenital physical or mental impairments;
- the predisposition to a medical condition or a disease;
- the prediction of treatment response or reactions;
- the definition or monitoring of therapeutic measures;

The device is **not intended** for the detection of testicular tumors.

### 1.1 Scientific Validity

DHT is a potent androgenic sex hormone, synthesized from testosterone by two 5 $\alpha$ -reductase isoenzymes mainly in the Leydig cells of the testes, but also in the adrenal gland, prostate and to a lower extent in the ovaries(1). Together with testosterone, androstenedione and dihydroepiandrosterone (DHEA), DHT belongs to the androgen family of steroid hormones that act by binding to intracellular androgen receptors (AR)(2). DHT and Testosterone bind with similar high affinity to AR, but DHT is the more potent androgen because of more efficient AR cofactor stimulation (3). AR activation regulates prostate growth, bone and muscle mass, and spermatogenesis. Androgens circulate in the blood bound to proteins, especially sex hormone binding globulin (SHBG) and albumin, but trace amounts of these steroids circulate in the unbound form and are referred to as the free hormone fractions (4). The major organ to neutralize androgens is the liver, and the androgen glucuronides are eliminated by renal excretion (5). During embryogenesis, DHT plays an essential role in the formation of the male external genitalia, while in adults DHT acts as the primary androgen in the prostate and in hair follicles. It is responsible for the male secondary sexual characteristics such as deepening of the vocal chords, male hair patterns and male sexual drive and function. DHT levels are high in adolescent men and slowly decrease with aging. DHT levels are very low in females and do not change during the menstrual cycle, but decrease in the postmenopausal phase (6).

#### **Clinical implications:**

In men, very low plasma levels of DHT are found in patients with germinal cell aplasia, azoospermia, anorchia, Klinefelter's syndrome or 5 $\alpha$ -reductase deficiency, an autosomal-recessive genetic disorder, which leads to inadequate differentiation of DHT-dependent peripheral tissues (6,7). DHT has been implicated as a causative factor in the progression of hirsutism, androgenic alopecia, benign prostatic hyperplasia and prostate cancer (8,9). In women, patients with idiopathic hirsutism or polycystic ovaries (PCO) show significantly higher levels of DHT and testosterone compared to healthy controls (10,11). Women with increased DHT levels may develop certain androgynous male secondary sex characteristics, including a deepened voice and facial hair.

## 2 PRINCIPLE OF THE TEST

The DEMEDIATEC Dihydrotestosterone ELISA DE5761 is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) based on the **principle of competitive binding**.

The microtiter wells are coated with a polyclonal antibody directed towards antigenic sites of the DHT molecule.

During the first incubation, the DHT in the added sample competes with the added enzyme conjugate, which is DHT conjugated to horseradish peroxidase, for binding to the coated antibody.

After a washing step to remove all unbound substances, the solid phase is incubated with the substrate solution. The colorimetric reaction is stopped by addition of stop solution, and optical density (OD) of the resulting yellow product is measured. The intensity of color is inversely proportional to the concentration of the analyte in the sample.

A standard curve is constructed by plotting OD values against concentrations of standards, and concentrations of unknown samples are determined using this standard curve.

### 3 WARNINGS AND PRECAUTIONS

- This kit is for *in vitro* diagnostic use only. For laboratory professional use only.
- Before starting the assay, read the instructions for use completely and carefully. Use the valid version of instructions for use provided with the kit. Be sure that everything is understood.
- Do not mix or use components from kits with different lot numbers. It is advised not to interchange wells of different plates even of the same lot. The kits may have been shipped or stored under different conditions and the binding characteristics of the plates may result slightly different.
- Do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
- Do not reuse microtiter wells.
- Reagents of other manufacturers must not be used together with the reagents of this test kit.
- All reagents in this kit are clear liquids, substrate solution is clear and colorless. Changes in its appearance may affect the performance of the test. In that case, contact DEMEDITEC.
- Microbial contamination of reagents or samples may give false results.
- Allow the reagents to reach room temperature (20 °C to 26 °C) before starting the test. Temperature will affect the optical density readings of the assay.
- All indicated volumes must be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microtiter plate readers.
- Use reservoirs only for single reagents. This especially applies to the substrate reservoirs. Using a reservoir for dispensing a substrate solution that had previously been used for the conjugate solution may turn solution coloured. Do not pour reagents back into original vials as reagent contamination may occur.

#### General precautions

- Follow good laboratory practice and safety guidelines.
- Never pipet by mouth and avoid contact of reagents and samples with skin and mucous membranes.
- Do not smoke, eat, drink, or apply cosmetics in areas where samples or kit reagents are handled.
- Wear lab coats and disposable latex gloves when handling samples and reagents and where necessary safety glasses.

#### Biohazard information

- All reagents of this test kit which contain human serum or plasma have been tested and confirmed negative for HIV I/II, HBsAg and HCV by FDA approved procedures. However, no known test method can offer total assurance that no infectious agent is present.
- The device contains material of animal origin, which is certified apparently free of infectious or contagious diseases and injurious parasites.
- Bovine components originate from countries where BSE (Bovine spongiform encephalopathy) has not been reported.
- All materials and samples of human or animal origin must be handled as if capable of transmitting infectious diseases.
- Handling must be done in accordance with the procedures defined by appropriate national biohazard and safety guideline or regulation. Waste must be discarded according to local rules and regulations.

#### Information to chemical hazards and hazard classification

- Some reagents contain preservatives in non-declarable concentrations. Nevertheless, in case of contact with eyes or skin, flush immediately with water.
- Substrate Solution contains an ingredient in non-declarable concentrations which causes serious eye irritation. In case of possible contact with eyes, rinse immediately carefully and thoroughly with eye wash or water. After contact with skin, wash with plenty of water. Take-off contaminated clothing and wash it before reuse.
- Avoid contact with Stop Solution containing 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. It may cause skin irritation and burns.
- Chemicals and prepared or used reagents must be treated as hazardous waste according to the national safety guideline or regulation.
- This product does not contain substances which have carcinogenic, mutagenic or toxic for reproduction (CMR) properties.

All reagents of this test kit do NOT contain hazardous substances in concentrations to be declared, a classification and labelling is not required. For detailed information, please refer to the Safety Data Sheet, which is available upon request directly from DEMEDITEC.

## 4 MATERIALS

### 4.1 Materials provided with the kit

- SORB MT Microtiterwells**, 12 x 8 (break apart) strips, 96 wells; Coated with anti-DHT antibody (polyclonal).
- Sealing Film**, 1 sheet; Clear plastic foil to cover wells during 37 °C incubation.
- CAL 0 Zero Standard**, 1 vial, 3 mL, ready to use. 0 pg/mL; Contains non-mercury preservative.
- CAL 1 – 5 Standard (Standard 1-5)**, 5 vials, 1 mL, ready to use;  
Concentrations: 25; 100; 250; 625; 1500 pg/mL. Contain non-mercury preservative, Calibrated against the following reference material: Cerilliant D-073
- CONTROL low & high Control Low & High**, 2 vials, 1 mL each, ready to use. For control values and ranges please refer to vial label or Certificate of Analysis. Contain non-mercury preservative.
- ENZ CONJ DIL Conjugate Diluent**, 1 vial, 4 mL, Colored red. ready to use; Contains non-mercury preservative.
- ENZ CONJ 10x Enzyme Conjugate 10X concentrate**, 1 vial, 0.5 mL, DHT conjugated to horseradish peroxidase; See “Reagent Preparation“. Contains non-mercury preservative.
- SUB TMB Substrate Solution**, 1 vial, 14 mL, ready to use, Tetramethylbenzidine (TMB). Keep away from direct sun light.
- STOP SOLN Stop Solution**, 1 vial, 14 mL, ready to use, contains 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.
- WASH SOLN 40x Wash Solution**, 1 vial, 30 mL (40X concentrated), See “Reagent Preparation“.
- Instruction for Use (IFU), Certificate of Analysis

### 4.2 Materials required but not provided

- A calibrated microtiter plate reader (450 nm, with reference wavelength at 620 nm to 630 nm)
- Calibrated variable precision micropipettes
- Incubator for 37 °C
- Manual or automatic equipment for rinsing microtiter plate wells
- Absorbent paper
- Distilled water
- Timer
- Graph paper or software for data reduction

### 4.3 Storage and Stability of the Kit

**Unopened kits and reagents** as well as **opened reagents** must be stored at 2 °C to 8 °C.

The microtiter plate contains snap-off strips. Do not open the pouch of the wells until it reaches room temperature. Unused wells must be stored at 2 °C to 8 °C in the sealed foil pouch including the desiccant and used in the plate frame provided. Once the foil bag has been opened, care must be taken to close it tightly again.

Once opened, reagent vials must be closed tightly again.

	Storage Temperature	Stability
Unopened kits and unopened reagents	2 °C to 8 °C	Until the expiration date printed on the label. Do not use reagents beyond this date!
Opened kit	2 °C to 8 °C	8 weeks

### 4.4 Reagent Preparation

Bring all reagents and required number of strips to room temperature (RT, 20 °C to 26 °C) prior to use.

#### Wash Solution

Add distilled water to the 40X concentrated Wash Solution. Dilute 30 mL of concentrated *Wash Solution* with 1170 mL distilled water to a final volume of 1200 mL.

Stability after dilution:	at 20 °C to 26 °C	1 week
---------------------------	-------------------	--------

**Enzyme Conjugate**

Dilute *Enzyme Conjugate* concentrate **1:10** in *Conjugate Diluent*.

Stability after dilution:	at 2 °C to 8 °C	1 week in a sealed container
---------------------------	-----------------	------------------------------

**Example:**

If the whole plate is used, dilute 0.36 mL *Enzyme Conjugate 10X conc.* with 3.24 mL *Conjugate Diluent* to a total volume of 3.6 mL.

If the whole plate is not used at once, prepare the required quantity of Enzyme Conjugate by mixing *Enzyme Conjugate 10X conc.* with *Conjugate Diluent* as shown in the table:

No. of strips	Enzyme Conjugate 10X conc. (µL)	Conjugate Diluent (mL)
1	30	0.27
2	60	0.54
4	120	1.08
6	180	1.62
8	240	2.16
10	300	2.70
12	360	3.24

**4.5 Disposal of the Kit**

The disposal of the kit and all used materials/reagents must be performed according to the national regulations. Special information for this product is given in the Safety Data Sheet, section 13.

**4.6 Damaged Test Kits**

In case of any damage to the test kit or components, DEMEDITEC must be informed in writing, at the latest one week after receiving the kit. Damaged single components must not be used for a test run. They have to be stored until a final solution has been found. After this, they must be disposed of according to the official regulations.

## 5 SAMPLE COLLECTION, STORAGE AND PREPARATION

The following sample material can be used in this test:

**Human serum or plasma** (EDTA plasma, lithium heparin plasma or citrate plasma)

Samples containing sodium azide should not be used in the assay.

In general, it should be avoided to use hemolytic, icteric, or lipemic samples. For further information refer to chapter "*Interfering Substances*".

### 5.1 Sample Collection

**Serum:** Collect blood by venipuncture (e.g. Sarstedt Monovette for serum), allow to clot, and separate serum by centrifugation at room temperature. Do not centrifuge before complete clotting has occurred. Patients receiving anticoagulant therapy may require increased clotting time.

**Plasma:** Whole blood should be collected into centrifuge tubes containing anticoagulant (e.g. Sarstedt Monovette with the appropriate plasma preparation) and centrifuged immediately after collection.

Whole blood should not be frozen before centrifugation.

### 5.2 Samples Storage

Samples must be stored tightly capped prior to performing the assay. If stored frozen, freeze only once. Thawed samples must be inverted several times prior to testing.

Stability	at 2 °C to 8 °C	5 days
	at -20 °C (in aliquots)	up to 12 months

### 5.3 Sample Preparation

Samples can be assayed without additional preparation.

## 6 ASSAY PROCEDURE

### 6.1 Procedural Notes

- All reagents and samples must be allowed to come to room temperature (20 °C to 26 °C) before use.
- All reagents must be mixed without foaming.
- Do not interchange caps of reagent vials to avoid cross-contamination.
- Use new disposal plastic pipette tips for each standard, control, or sample in order to avoid carry-over.
- To avoid cross-contamination and falsely elevated results pipette patient samples and dispense conjugate without splashing accurately to the bottom of wells.
- Mix the contents of the microtiter plate wells thoroughly to ensure good test results.
- Do not let wells dry during assay; add reagents immediately after completing the rinsing steps.
- Once the test has been started, all steps must be completed without interruption and in the same sequence for each step.
- The enzymatic reaction is linearly proportional to time and temperature.
- Optical density is a function of the incubation time and temperature. Respect the incubations times and temperatures as given in chapter "Test Procedure".
- Before starting the assay, it is recommended that all reagents are ready, caps removed, all needed wells secured in holder, etc. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step without interruption.
- During the incubation at 37 °C cover microtiter strips with foil to avoid evaporation.
- **Important note to wash procedure:**  
Washing is critical. Improperly washed wells will give erroneous results. The sensitivity and precision of this assay is markedly influenced by the correct performance of the washing procedure!
- **Test performance using fully automated analysis devices:**  
Automated test performance using fully automated, open-system analysis devices is possible. However, the combination must be validated by the user.



## 6.2 Test Procedure

Each run must include a standard curve. The controls serve as internal controls for the reliability of the test procedure. They must be assayed with each test run.

The given test procedure describes manual processing.

1. Secure the desired number of microtiter wells in the frame holder.
2. Pipette **75 µL** of each **Standard, Control**, and **sample** with new disposable tips into appropriate wells.
3. Add **25 µL Enzyme Conjugate** into each well.  
Thoroughly mix for 10 seconds. It is important to have a complete mixing in this step.
4. Cover the wells with sealing film or equivalent.  
Incubate for **60 minutes at 37 °C**.
5. Wash the wells as follows:  
If the wash step is performed manually:  
Briskly shake out the contents of the wells.  
Rinse the wells **3 times** with **300 µL** diluted *Wash Solution* per well.

If an automated plate washer is used:

Rinse the wells **3 times** with **400 µL** diluted *Wash Solution* per well.

At the end of the washing step, always strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets!

6. Pipette **100 µL** of **Substrate Solution** to each well.
7. Incubate for **15 minutes** at room temperature.
8. Stop the enzymatic reaction by adding **100 µL** of **Stop Solution** to each well.
9. Measure the optical density (OD) of the solution in each well at **450 nm (reading) and at 620 nm to 630 nm (background subtraction, recommended)** with a microtiter plate reader.  
It is recommended that the wells be read **within 10 minutes** after adding the *Stop Solution*.

## 6.3 Calculation of Results

1. The concentration of the samples can be read directly from the standard curve.
2. For duplicate determinations, the mean of the two optical density (OD) values for each standard, control, and patient sample must be taken. If the two values deviate substantially from one another, DEMEDITEC recommends retesting the samples.
3. Samples with concentrations exceeding the highest standard can be further diluted with *Zero Standard* and re-assayed as described in "Test Procedure", or must be reported as > 1500 pg/mL. For the calculation of the concentrations, this dilution factor must be considered.  
(*Example: dilution 1:2: 75 µL sample + 75 µL Zero Standard*) We recommend to dilute samples not more than 1:4.
4. Automated method:  
The results in the instructions for use have been calculated automatically using a four-parameter logistic (4PL) curve fit. (4PL Rodbard or 4PL Marquardt are the preferred methods.) Other data reduction functions may give slightly different results.
5. Manual method:  
Using semi-logarithmic graph paper, construct a standard curve by plotting the (mean) OD obtained from each standard against its concentration with OD value on the vertical (Y) axis and concentration on the horizontal (X) axis.  
Determine the corresponding sample concentration from the standard curve by using the (mean) OD value for each sample.

**6.3.1 Example of Typical Standard Curve**

The following data is for demonstration only and **cannot** be used in place of data generations at the time of assay.

Standard	Optical Units (450 nm)
Zero Standard (0 pg/mL)	2.409
Standard 1 (25 pg/mL)	1.939
Standard 2 (100 pg/mL)	1.364
Standard 3 (250 pg/mL)	0.869
Standard 4 (625 pg/mL)	0.449
Standard 5 (1500 pg/mL)	0.189

**7 REFERENCE VALUES**

It is strongly recommended that each laboratory determine its own reference values.

In a study conducted with apparently healthy adults, using the DEMEDITEC Dihydrotestosterone ELISA DE5761 the following data were observed:

Population	n	Range (pg/mL)	Mean (pg/mL)	2.5 <sup>th</sup> - 97.5 <sup>th</sup> Percentile (pg/mL)	Median (pg/mL)
Males	123	135 - 1365	394	175 - 913	349
Females premenopausal	77	59 - 572	236	78 - 536	209
Females postmenopausal	45	20 - 281	127	33 - 276	120

The results alone should not be the only reason for any therapeutic consequences. The results must be correlated to other clinical observations and diagnostic tests.

**8 QUALITY CONTROL**

Good laboratory practice requires that controls be run with each calibration curve. A statistically significant number of controls should be assayed to establish mean values and acceptable ranges to assure proper performance.

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day-to-day validity of results. Use controls at both normal and pathological levels.

The controls and the corresponding results of the Quality Control Laboratory are stated in the Certificate of Analyses (CoA) added to the kit. The values and ranges stated on the CoA always refer to the current kit lot and must be used for direct comparison of the results.

If available, it is also recommended to make use of national or international Quality Assessment programs in order to ensure the accuracy of the results.

Apply appropriate statistical methods for analyzing control values and trends. If the results of the assay do not agree with the established acceptable ranges of control materials, patient results should be considered invalid.

In this case, please check the following technical areas: Pipetting and timing devices; photometer, expiration dates of reagents, storage and incubation conditions, aspiration and washing methods.

After checking the above-mentioned items without finding any error contact your distributor or DEMEDITEC directly.

## 9 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 9.1 Specificity of Antibodies (Cross-Reactivity)

The following substances were tested for cross-reactivity of the assay:

Substance	Concentration tested (ng/mL)	Mean Cross-Reactivity (%)
17-OH-Progesterone	20	0.0
Aldosterone	1	0.0
Androstenedione	10	0.67
Corticosterone	1	0.05
Danazol	1	0.0
DHEA	30	0.09
DHEA-S	10000	0.01
Estradiol	2	0.0
Estriol	40	0.44
Estrone	2.4	0.0
Ethisterone	1	0.0
Progesterone	40	0.0
Testosterone	8.5	3.22

### 9.2 Sensitivity

Analytical sensitivity [Mean OD( <i>Zero Standard</i> ) - 2 × SD]	5.944 pg/mL
Limit of Blank (LoB)	4.40 pg/mL
Measuring range	6 pg/mL - 1500 pg/mL

### 9.3 Reproducibility

#### 9.3.1 Within-run Precision

The within-run precision of the DEMEDITEC ELISA was determined with 3 samples covering the complete measuring range in 1 run in 20 replicates per run. CV was calculated as mean CV of 20 replicates.

Sample	n	Mean (pg/mL)	CV (%)
1	20	230.07	7.4
2	20	489.11	9.1
3	20	853.36	7.5

#### 9.3.2 Between-run Precision

The between-run variation of the DEMEDITEC ELISA was determined with 3 samples covering the complete measuring range. The 3 samples were measured in 4 independent runs with 10 replicates per run. 40 data points were generated per sample.

Sample	n	Mean (pg/mL)	CV (%)
1	40	276.19	14.0
2	40	438.38	12.0
3	40	840.30	14.8

### 9.3.3 Between-lot Precision

The between-lot variation was determined by 6 measurements of 3 samples with 3 different kit lots.

Sample	n	Mean (pg/mL)	CV (%)
1	18	95.64	7.8
2	18	210.86	11.1
3	18	742.98	7.3

### 9.4 Recovery

Recovery was determined by adding increasing amounts of the analyte to different patient samples containing different amounts of endogenous analyte. The percentage recoveries were determined by comparing expected and measured values of the samples.

		Sample 1	Sample 2	Sample 3
Concentration (pg/mL)		232.29	419.44	884.70
Average Recovery		98.6	104.7	95.9
Range of Recovery [%]	from	89.3	93.3	86.8
	to	105.0	114.5	111.8

### 9.5 Linearity

Samples containing different amounts of analyte were serially diluted with *Zero Standard*. The percentage recovery was calculated by comparing the expected and measured values for the analyte. We recommend to dilute the samples not more than 1:4.

		Sample 1	Sample 2	Sample 3
Concentration (pg/mL)		512.81	575.78	759.41
Average Recovery		102.0	110.4	90.6
Range of Recovery [%]	from	95.8	106.7	85.7
	to	108.2	114.2	95.5

## 10 LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Reliable and reproducible results will be obtained when the assay procedure is performed with a complete understanding of the instructions for use and with adherence to good laboratory practice. Any improper handling of samples or modification of this test might influence the results.

### 10.1 Interfering Substances

Hemoglobin (up to 4 mg/mL), bilirubin (up to 0.5 mg/mL) and triglyceride (up to 30 mg/mL) have no influence on the assay results.

### 10.2 Drug Interferences

Until today no substances (drugs) are known to us, which have an influence on the measurement of DHT in a sample.

### 10.3 High-Dose Hook Effect

A high-dose hook effect is not known for competitive assays.

## **11 LEGAL ASPECTS**

### **11.1 Reliability of Results**

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover, the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable national standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications. If there is any doubt or concern regarding a result, please contact DEMEDITEC.

### **11.2 Therapeutic Consequences**

Therapeutic consequences should never be based on laboratory results alone even if all test results are in agreement with the items as stated under point 11.1. Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of a patient.

Only in cases where the laboratory results are in acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient should therapeutic consequences be derived.

The test result itself should never be the sole determinant for deriving any therapeutic consequences.

### **11.3 Liability**

Any modification of the test kit and/or exchange or mixture of any components of different lots from one test kit to another could negatively affect the intended results and validity of the overall test. Such modification and/or exchanges invalidate any claim for replacement.

Claims submitted due to customer misinterpretation of laboratory results subject to point 11.2 are also invalid. Regardless, in the event of any claim, the manufacturer's liability is not to exceed the value of the test kit. Any damage caused to the test kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer.

### **11.4 Reporting of Serious Incident**

Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and/or the patient is established.

## 1 DESTINAZIONE D'USO

DEMEDIATEC **Dihydrotestosterone ELISA DE5761** è un test immunoenzimatico manuale per la misurazione **quantitativa** di 5 $\alpha$ -Diidrotestosterone (DHT) totale nel siero o nel plasma umano (EDTA, Li-eparina o plasma citrato).

**Per uso diagnostico *in vitro*. Per uso professionale di laboratorio.**

*Per ulteriori informazioni sulla destinazione d'uso, consultare le istruzioni per l'uso in inglese.*

## 2 PRINCIPIO DEL TEST

Il test DEMEDIATEC Dihydrotestosterone ELISA DE5761 è un dosaggio immuno-assorbente legato a un enzima a fase solida (ELISA) basato sul **principio del legame competitivo**.

I pozzetti per microtitolazione sono rivestiti con un anticorpo policlonale diretto verso i siti antigenici della molecola di DHT.

Durante la prima incubazione, l'analita DHT nel campione aggiunto compete con il coniugato enzimatico aggiunto, che è DHT coniugato alla perossidasi di rafano, per legarsi all'anticorpo rivestito.

Dopo una fase di lavaggio per rimuovere tutte le sostanze non legate, la fase solida viene incubata con la soluzione di substrato. La reazione colorimetrica viene bruscamente interrotta con l'aggiunta di soluzione di arresto e viene misurata la densità ottica (DO) del prodotto giallo risultante. L'intensità della colorazione è inversamente proporzionale alla concentrazione dell'analita nel campione.

Una curva standard viene costruita tracciando i valori di DO rispetto alle concentrazioni di standard; le concentrazioni di campioni sconosciuti vengono determinate usando questa curva standard.

## 3 AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Questo kit è solo per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale di laboratorio.
- Prima di avviare il dosaggio, leggere completamente e attentamente le istruzioni per l'uso. Utilizzare la versione valida delle istruzioni per l'uso fornita con il kit. Assicurarsi che tutto sia stato compreso.
- Non miscelare o utilizzare componenti provenienti da kit con un diverso numero di lotto. Si raccomanda di non scambiare pozzetti di piastre diverse, anche se dello stesso lotto. I kit potrebbero essere stati spediti o conservati in condizioni differenti e le caratteristiche di legame delle piastre potrebbero essere leggermente diverse.
- Non utilizzare reagenti oltre la data di scadenza riportata sulle etichette del kit.
- Non riutilizzare i pozzetti di microtitolazione.
- Non usare reagenti di altri produttori in combinazione con i reagenti di questo kit di test.
- Tutti i reagenti di questo kit sono liquidi trasparenti; la soluzione di substrato è trasparente e incolore. Modifiche nell'aspetto possono influenzare le prestazioni del test. In questo caso, contattare DEMEDIATEC.
- La contaminazione microbica dei reagenti o dei campioni può dare risultati falsi.
- Prima di avviare il test, attendere che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente (da 20 °C a 26 °C). La temperatura influenza le letture della densità ottica del dosaggio.
- Usare i volumi indicati secondo quanto previsto dal protocollo. I risultati ottimali del test si ottengono solo utilizzando pipette calibrate e lettori di piastre per microtitolazione.
- Utilizzare serbatoi solo per reagenti singoli. Ciò vale in particolare per i serbatoi per il substrato. L'utilizzo di un serbatoio per l'erogazione di una soluzione di substrato precedentemente usato per la soluzione di coniugato potrebbe causare una colorazione della soluzione. Non versare nuovamente i reagenti nelle fiale originali, poiché potrebbe verificarsi una contaminazione.

### Precauzioni generali

- Seguire le linee guida relative alle buone prassi e alla sicurezza in laboratorio.
- Non pipettare mai a bocca ed evitare il contatto dei reagenti e dei campioni con la pelle e le mucose.
- Non fumare, mangiare, bere o applicare cosmetici nelle aree dove vengono manipolati campioni o reagenti del kit.
- Quando si maneggiano campioni e reagenti, indossare camici da laboratorio e guanti in lattice monouso e occhiali di sicurezza ove necessario.

**Informazioni sul rischio biologico**

- Tutti i reagenti di questo kit che contengono siero o plasma umano sono stati testati e confermati negativi rispetto a HIV I/II, HBsAg e HCV usando procedure approvate dalla FDA. Tuttavia, nessun metodo noto può garantire con certezza assoluta che non sia presente alcun agente infettivo.
- Il dispositivo contiene materiale di origine animale, certificato come apparentemente privo di malattie infettive o contagiose e parassiti nocivi.
- I componenti bovini provengono da paesi in cui non è stata segnalata la BSE (Encefalopatia spongiforme bovina).
- Maneggiare tutti i materiali e i campioni di origine umana o animale come potenziali fonti di malattie infettive.
- Manipolare in conformità con le procedure definite dalle linee guida o dai regolamenti nazionali in materia di rischio biologico e sicurezza. Smaltire i rifiuti secondo le norme e i regolamenti locali.

**Informazioni sul rischio chimico e sulla classificazione dei pericoli**

- Alcuni reagenti contengono conservanti in concentrazioni non dichiarabili. Tuttavia, in caso di contatto con gli occhi o la pelle, sciacquare immediatamente con acqua.
- La soluzione di substrato contiene un ingrediente in concentrazioni non dichiarabili che provoca grave irritazione oculare. In caso di contatto con gli occhi, sciacquare subito accuratamente ed abbondantemente con una soluzione di lavaggio oculare o acqua. Dopo il contatto con la pelle, lavare abbondantemente con acqua. Togliere gli indumenti contaminati e lavarli prima di riutilizzarli.
- Evitare il contatto con la soluzione di arresto contenente 0,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Può provocare irritazioni e ustioni alla pelle.
- Trattare i prodotti chimici e i reagenti preparati o usati come rifiuti pericolosi secondo le linee guida o i regolamenti nazionali sulla sicurezza.
- Questo prodotto non contiene sostanze con proprietà cancerogene, mutagene o tossiche per la riproduzione (CMR).

Tutti i reagenti di questo kit di test NON contengono sostanze pericolose in concentrazioni da dichiarare; non è richiesta una classificazione ed etichettatura. Per informazioni dettagliate fare riferimento alla Scheda di Sicurezza, disponibile su richiesta direttamente da DEMEDITEC.

**4 MATERIALI****4.1 Materiali forniti nel kit**

1. **SORB** **MT** **Microtiterwells** (Micropozetti), 12 x 8 file (separatamente staccabili), 96 pozzetti; Pozzetti ricoperti con l'anti-DHT anticorpo (policlonale)
2. **Sealing Film** (Pellicola adesiva), 1 foglio; plastica trasparente per coprire i pozzetti durante l'incubazione a 37 °C.
3. **CAL** **0** **Zero Standard**, 1 vial, 3 mL, ready to use. 0 pg/mL; Contiene conservante senza mercurio.
4. **CAL** **1** – **5** **Standard (Standard 1-5)**, 5 flaconi, 1 mL, pronto all'uso  
Concentrazioni: 25; 100; 250; 625; 1500 pg/mL; Calibrato rispetto al seguente materiale di riferimento: Cerilliant D-073, Contiene conservante senza mercurio.
5. **CONTROL** **low** & **high** **Control Low & High** (Controlli), 2 flaconi, 1 mL, Per gli intervalli e i valori di controllo vedere l'etichetta della fiala o il certificato di analisi (CoA). Contiene conservante senza mercurio.
6. **ENZ** **CONJ** **DIL** **Conjugate Diluent** (Diluyente del tracciante), 1 flacone, 4 mL, Colorata di rosso pronto all'uso, Contiene conservante senza mercurio
7. **ENZ** **CONJ** **10x** **Enzyme Conjugate Concentrate 10X** (Coniugato enzimatico, concentrato 10X), 1 flacone, 0,5 mL, DHT coniugato con perossidasi di rafano. Colorato di verde, vedere preparazione dei reagenti, Contiene conservante senza mercurio.
8. **SUB** **TMB** **Substrate Solution** (Soluzione di substrato), 1 flacone, 14 mL, Contiene 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). Conservare al riparo dalla luce solare diretta.
9. **STOP** **SOLN** **Stop Solution** (Soluzione di arresto), 1 flacone, 14 mL, pronto all'uso; contiene 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.  
Evitare il contatto con la soluzione d'arresto. Può causare irritazioni cutanee e ustioni.
10. **WASH** **SOLN** **40x** **Wash Solution** (Soluzione di lavaggio, concentrato 40X), 1 flacone, 30 mL (concentrata 40X); vedere „preparazione dei reagenti“.
11. Istruzioni per l'uso (IFU), Certificato di analisi (CoA)

**4.2 Materiali necessari ma non forniti**

- Lettore di piastre per microtitolazione calibrato (450 nm, con lunghezza d'onda di riferimento tra 620 nm e 630 nm)
- Micropipette a precisione variabile, calibrate
- Incubatore a 37 °C
- Dispositivo di lavaggio manuale o automatico per piastre per microtitolazione
- Carta assorbente
- Acqua distillata
- Timer
- Carta millimetrata o software per il calcolo dei dati

**4.3 Conservazione e stabilità del kit**

**I kit e i reagenti non aperti e i reagenti aperti** devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C.

La piastra per microtitolazione contiene strisce staccabili. Non aprire il sacchetto dei pozzetti finché non raggiunge la temperatura ambiente. I pozzetti inutilizzati devono essere conservati tra 2 °C e 8 °C nel sacchetto di alluminio sigillato con dentro l'essiccante e devono essere utilizzati nel telaio fornito. Dopo l'apertura, il sacchetto di alluminio deve essere chiuso ermeticamente e con la massima cura.

Dopo l'apertura, le fiale di reagente devono essere nuovamente chiuse ermeticamente.

	Temperatura di conservazione	Stabilità
Kit non aperto e reagenti non aperti	2 °C a 8 °C	Fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta. Non utilizzare i reagenti dopo questa data!
Kit aperti	2 °C a 8 °C	8 settimane

**4.4 Preparazione dei reagenti**

Prima dell'uso portare tutti i reagenti e il numero necessario di pozzetti a temperatura ambiente (TA, 20 °C a 26 °C).

**Soluzione di lavaggio**

Aggiungere acqua distillata alla soluzione di lavaggio con concentrazione di 40X.

Diluire 30 mL soluzione di lavaggio concentrata con 1170 mL di acqua distillata fino a un volume finale di 1200 mL.

Stabilità dopo la diluizione:	da 20 °C a 26 °C	1 settimana
-------------------------------	------------------	-------------

**Coniugato enzimatico**

Diluire il coniugato enzimatico concentrato con proporzione 1:10 nel diluente coniugato.

Stabilità dopo la diluizione:	da 2 °C a 8 °C	1 settimana in un recipiente sigillato
-------------------------------	----------------	--



**Esempio:**

Se la piastra intera è usata, diluire 0,36 mL *Enzyme Conjugate 10X* con 3,24 mL del *Conjugate Diluent* per avere un volume totale di 3,6 mL.

Se non viene usata una piastra intera preparare la quantità del tracciante necessaria mescolando 30 µL del *Enzyme Conjugate 10X* con 0,27 mL del *Conjugate Diluent* per ogni fila di micropozzetti (vedi tabella):

No. di file	Enzyme Conjugate 10X conc. (µL)	Conjugate Diluent (mL)
1	30	0,27
2	60	0,54
4	120	1,08
6	180	1,62
8	240	2,16
10	300	2,70
12	360	3,24

**4.5 Smaltimento del kit**

Lo smaltimento del kit e di tutti i materiali/reagenti usati deve essere effettuato nel rispetto delle normative nazionali. Informazioni specifiche su questo prodotto sono riportate nella Scheda di Sicurezza, sezione 13.

**4.6 Kit di test danneggiati**

In caso di danni al kit del test o ai componenti, DEMEDITEC deve essere informato per iscritto, al più tardi una settimana dopo la ricezione del kit. I singoli componenti danneggiati non devono essere utilizzati per i test. Devono essere invece conservati fino a quando non è stata individuata una soluzione definitiva. Successivamente potranno essere smaltiti secondo le norme in vigore.

**5 PRELIEVO, CONSERVAZIONE E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI**

In questo test è possibile utilizzare il seguente materiale campione:

**Siero o plasma umano** (EDTA, litio eparina o plasma citrato)

Campioni contenenti azoturo di sodio non devono essere utilizzati nel dosaggio.

In generale si dovrebbe evitare l'uso di campioni emolitici, itterici o lipemici. Per ulteriori informazioni consultare il capitolo "*Sostanze interferenti*".

**5.1 Prelievo dei campioni**

**Siero:** Prelevare il sangue mediante venipuntura (ad es. Sarstedt Monovette per siero), far coagulare e separare il siero centrifugando a temperatura ambiente. Non centrifugare prima che la coagulazione sia completata. Campioni di pazienti in terapia anticoagulante potrebbero richiedere più tempo per la coagulazione.

**Plasma:** Prelevare il sangue in provette da centrifuga contenenti un anticoagulante (ad es. Sarstedt Monovette con un'adeguata preparazione per il plasma) e centrifugare subito dopo il prelievo. Il sangue intero non deve essere congelato prima della centrifugazione.

**5.2 Conservazione dei campioni**

I campioni devono essere conservati ben tappati prima di eseguire il dosaggio. Se vengono conservati in congelatore, congelarli solo una volta. I campioni scongelati devono essere invertiti più volte prima di eseguire il test.

Stabilità:	da 2 °C a 8 °C	5 giorni
	a -20 °C (in aliquote)	fino a 12 mesi

**5.3 Preparazione dei campioni**

I campioni possono essere analizzati senza ulteriore preparazione.

## 6 PROCEDURA DEL DOSAGGIO

### 6.1 Note sulla procedura

- Portare tutti i reagenti e i campioni a temperatura ambiente (20 °C a 26 °C) prima dell'uso.
- Miscelare tutti i reagenti senza formare schiuma.
- Non scambiare tra loro i tappi delle fiale di reagente per evitare contaminazioni incrociate.
- Per ogni componente, standard, controllo o campione è necessario utilizzare un nuovo puntale di pipettaggio in plastica monouso per evitare il carry-over.
- Per evitare la contaminazione incrociata e risultati falsamente elevati, pipettare i campioni dei pazienti e dispensare il coniugato accuratamente sul fondo dei pozzetti senza produrre schizzi.
- Per garantire risultati ottimali del test, mescolare accuratamente il contenuto dei pozzetti della piastra per microtitolazione.
- Non lasciare asciugare i pozzetti durante il dosaggio; aggiungere i reagenti subito dopo aver completato le fasi di risciacquo.
- Dopo l'avvio del test, completare tutti i passaggi senza interruzioni e seguendo la stessa sequenza per ogni passaggio.
- La reazione enzimatica è linearmente proporzionale al tempo e alla temperatura.
- La densità ottica è una funzione del tempo di incubazione e della temperatura. Rispettare i tempi e le temperature di incubazione come indicato nel capitolo "Procedura del test".
- Prima di avviare il dosaggio, è raccomandato fare in modo che tutti i reagenti siano pronti, i tappi rimossi, tutti i pozzetti necessari fissati sul supporto ecc. Questo garantirà un tempo trascorso identico per ogni fase di pipettaggio senza interruzioni.
- Durante l'incubazione a 37 °C coprire le strisce di microtitolazione con un foglio per evitare l'evaporazione.
- **Nota importante sulla procedura di lavaggio:**  
Il lavaggio è fondamentale. I pozzetti lavati in modo improprio daranno risultati errati. La sensibilità e la precisione di questo dosaggio sono notevolmente influenzate dalla corretta esecuzione della procedura di lavaggio!
- **Prestazioni del test utilizzando dispositivi di analisi completamente automatizzati:**  
È possibile eseguire test automatizzati utilizzando dispositivi di analisi a sistema aperto completamente automatizzati. Tuttavia, la combinazione deve essere convalidata dall'utente.

## 6.2 Procedura del test

Ogni analisi deve includere una curva standard. I controlli servono come controlli interni per la valutazione dell'affidabilità della procedura del test. Essi devono essere dosati a ogni esecuzione del test.

La procedura del test indicata descrive l'elaborazione manuale.

1. Fissare il numero desiderato di pozzetti di microtitolazione nel telaio di supporto.
2. Pipettare **75 µL** di ogni **Standard, Control, e campione** nei pozzetti appropriati, utilizzando puntali monouso.
3. Aggiungere **25 µL** di **Enzyme Conjugate** in ogni pozzetto. Mescolare accuratamente per 10 secondi. In questa fase, è importante che la miscelazione sia completa.
4. Coprire i pozzetti con la pellicola adesiva. Incubare per **60 minuti a 37 °C**.
5. Lavare i pozzetti nel modo seguente:  
Qualora la fase di lavaggio venga eseguita manualmente:  
Agitare energicamente il contenuto dei pozzetti.  
Risciacquare ogni pozzetto **3 volte** con **300 µL** di soluzione di lavaggio diluita.

Qualora si usi un dispositivo di lavaggio di micropiastre automatizzato:

Risciacquare ogni pozzetto **3 volte** con **400 µL** di soluzione di lavaggio diluita.

Al termine della fase di lavaggio, scuotere sempre energicamente i pozzetti su carta assorbente per rimuovere le gocce residue.

6. Pipettare **100 µL** di **Substrate Solution** in ogni pozzetto.
7. Incubare per **15 minuti** a temperatura ambiente.
8. Arrestare la reazione enzimatica aggiungendo **100 µL** di **Stop Solution** in ogni pozzetto.
9. Misurare la densità ottica (DO) della soluzione in tutti i pozzetti a **450 nm (lettura) e tra 620 e 630 nm (sottrazione del fondo, consigliata)** utilizzando un lettore per piastre per microtitolazione.  
Si consiglia di effettuare la lettura dei pozzetti **entro 10 minuti** dall'aggiunta della soluzione di arresto.

### 6.3 Calcolo dei risultati

1. La concentrazione dei campioni può essere letta direttamente dalla curva standard.
2. Per le misurazioni duplicate, è necessario considerare la media dei due valori di densità ottica (DO) per ogni standard, controllo e campione di paziente. Se i due valori si discostano sostanzialmente l'uno dall'altro, DEMEDITEC raccomanda di ritestare i campioni.
3. I campioni con concentrazioni superiori a quelle dello standard più elevato possono essere ulteriormente diluiti con *Zero Standard* e analizzati nuovamente secondo quanto descritto in "Procedura del test"; in alternativa, devono essere referati come > 1500 pg/mL. Per il calcolo delle concentrazioni è necessario considerare questo fattore di diluizione.  
(Esempio: diluizione 1:2: 75 µL campione + 75 µL *Zero Standard*)  
Si raccomanda di non diluire i campioni oltre un rapporto 1:4.
4. Metodo automatizzato:  
I risultati nelle istruzioni per l'uso sono stati calcolati automaticamente utilizzando un adattamento della curva logistica a quattro parametri (4PL). (I metodi preferiti sono 4PL Rodbard o 4PL Marquardt.) Altre funzioni di riduzione dei dati potrebbero dare risultati leggermente diversi.
5. Metodo manuale:  
Utilizzando carta millimetrata semilogaritmica, costruire una curva standard tracciando la (media) DO ottenuta da ogni standard contro la rispettiva concentrazione con il valore DO sull'asse verticale (Y) e la concentrazione sull'asse orizzontale (X). Determinare la concentrazione del campione corrispondente dalla curva standard utilizzando il valore OD (medio) per ogni campione.

#### 6.3.1 Esempio di una curva standard tipica

I seguenti dati vengono riportati a scopo esclusivamente dimostrativo e **non possono** sostituire i dati generati al momento di esecuzione del dosaggio.

Standard	Densità ottica (450 nm)
Zero Standard (0 pg/mL)	2,409
Standard 1 (25 pg/mL)	1,939
Standard 2 (100 pg/mL)	1,364
Standard 3 (250 pg/mL)	0,869
Standard 4 (625 pg/mL)	0,449
Standard 5 (1500 pg/mL)	0,189

## 7 VALORI DI RIFERIMENTO

È fortemente consigliato che ogni laboratorio determini i propri valori di riferimento.

In uno studio condotto su adulti apparentemente sani, usando il test DEMEDITEC Dihydrotestosterone ELISA DE5761, sono stati osservati i seguenti risultati:

Popolazione	n	Intervallo (pg/mL)	Media (pg/mL)	2,5. - 97,5. Percentile (pg/mL)	Mediano (pg/mL)
Uomini	123	135 - 1365	394	175 - 913	349
Donne premenopausa	77	59 - 572	236	78 - 536	209
Donne in post-menopausa	45	20 - 281	127	33 - 276	120

I risultati da soli non dovrebbero essere l'unico motivo per eventuali conseguenze terapeutiche. Correlare i risultati ad altre osservazioni cliniche e test diagnostici.

## 8 CONTROLLO DI QUALITÀ

Secondo le buone prassi di laboratorio, i controlli devono essere eseguiti per ogni curva standard. Un numero statisticamente significativo di controlli dovrebbe essere analizzato per stabilire i valori medi e gli intervalli accettabili per garantire prestazioni adeguate.

Si raccomanda di usare campioni di controllo secondo quanto previsto dalle norme locali o nazionali. Si consiglia di utilizzare campioni di controllo per garantire la validità giornaliera dei risultati. Utilizzare controlli sia a livelli normali che a livelli patologici.

I controlli e i corrispondenti risultati del Laboratorio di controllo qualità sono riportati nel Certificato di Analisi (CoA) inserito nel kit. I valori e gli intervalli indicati sul Certificato di analisi si riferiscono sempre al lotto del kit corrente e devono essere utilizzati per il confronto diretto dei risultati.

Se disponibili, si raccomanda inoltre di partecipare ai programmi nazionali o internazionali della valutazione della qualità per assicurare la precisione dei risultati.

Per analizzare i valori di controllo e gli andamenti, utilizzare metodi statistici appropriati. Se i risultati del dosaggio non si adattano agli intervalli di riferimento stabiliti per i controlli, i risultati dei pazienti non possono essere considerati validi.

In tal caso, verificare le seguenti aree tecniche: Dispositivi di pipettaggio e temporizzazione; fotometro, date di scadenza dei reagenti, condizioni di conservazione e incubazione, metodi di aspirazione e lavaggio.

Dopo aver verificato le voci sopra indicate senza riscontrare alcun errore, contattare il proprio distributore o direttamente DEMEDITEC.

## 9 CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

### 9.1 Specificità degli anticorpi (reattività incrociata)

*La versione inglese delle istruzioni per l'uso contiene informazioni dettagliate sulle sostanze testate.*

### 9.2 Sensibilità

Sensibilità analitica [DO media <sub>(Zero Standard)</sub> - 2 × SD, n = 20]	5,944 pg/mL
Limite del bianco (LoB)	4,40 pg/mL
Intervallo di misurazione	6,0 pg/mL - 1500 pg/mL

*I dati relativi a:*

### 9.3 Riproducibilità (precisione)

### 9.4 Recupero

### 9.5 Linearità

*sono riportati nella versione inglese dettagliata delle istruzioni per l'uso.*

## 10 LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Se si esegue la procedura del dosaggio con una completa comprensione delle istruzioni per l'uso e nel rispetto delle buone prassi di laboratorio, i risultati ottenuti saranno affidabili e riproducibili.

Qualsiasi manipolazione impropria dei campioni o modifica di questo test potrebbe influenzare i risultati.

### 10.1 Sostanze interferenti

L'emoglobina (fino a 4 mg/mL), bilirubina (fino a 0,5 mg/mL) e i trigliceridi (fino a 30 mg/mL) non influiscono in alcun modo sui risultati del dosaggio.

### 10.2 Interferenze dei farmaci

Al momento non siamo a conoscenza di sostanze (farmaci) che influiscono sulla misurazione di DHT in un campione.

### 10.3 Effetto gancio a dose elevata

Non sono noti effetti gancio a dose elevata per i dosaggi competitivi.

## **11 ASPETTI LEGALI**

### **11.1 Affidabilità dei risultati**

Il test deve essere eseguito esattamente secondo quanto previsto dalle istruzioni d'uso del produttore. Inoltre, l'utente deve attenersi rigorosamente alle norme delle buone prassi di laboratorio o ad altri standard nazionali e/o leggi in vigore. Questo è particolarmente importante per l'uso dei reagenti di controllo. È importante includere sempre, all'interno della procedura del test, un numero sufficiente di controlli per convalidare l'accuratezza e la precisione del test.

I risultati del test sono validi solo se tutti i controlli sono compresi negli intervalli specificati e se anche tutti gli altri parametri del test rientrano nelle specifiche del dosaggio. In caso di dubbi o preoccupazioni in relazione a un risultato, contattare DEMEDITEC.

### **11.2 Conseguenze terapeutiche**

Le conseguenze terapeutiche non devono mai basarsi esclusivamente sui risultati di laboratorio, anche qualora tutti i risultati dei test concordino con gli elementi come indicato al punto 11.1. Qualsiasi risultato di laboratorio costituisce solo una parte del quadro clinico complessivo di un paziente.

Si dovrebbero trarre conseguenze terapeutiche solo nei casi in cui i risultati di laboratorio concordino in modo accettabile con il quadro clinico complessivo del paziente.

Il risultato del test, di per sé, non deve mai essere l'unico fattore determinante per una decisione terapeutica.

### **11.3 Responsabilità legali**

Qualsiasi modifica del kit di test e/o scambio o miscela di qualsiasi componente di lotti diversi da un kit di test a un altro potrebbe influenzare negativamente i risultati previsti e la validità del test nel suo complesso. Tali modifiche e/o scambi rendono nulla qualsiasi richiesta di sostituzione.










Anche i reclami presentati a causa di un'errata interpretazione da parte del cliente dei risultati di laboratorio indicati al punto 11.2 non saranno ritenuti validi.

In ogni caso, in caso di reclamo, la responsabilità del produttore non potrà superare il valore del kit di test. Il produttore non sarà responsabile di eventuali danni causati al kit di test durante il trasporto.

### **11.4 Segnalazione di incidenti gravi**

Tutti gli incidenti gravi relativi a questo prodotto devono essere notificati al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro di residenza dell'utente e/o del paziente.

**SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS**

Symbol	English	Deutsch	Française	Espanol	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	utilisation Diagnostic in vitro	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 catalogo
	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
	Note warnings and precautions	Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen beachten	Avertissements et mesures de précaution font attention	Tiene en cuenta advertencias y precauciones	Annoti avvisi e le precauzioni
	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>	Distributed by	Vertrieb durch	Distribution par	Distribución por	Distribuzione da parte di
	Version	Version	Version	Versión	Versione
	Single-use	Einmalverwendung	À usage unique	Uso único	Uso una volta