

## Набор Тестостерон [I-125] RIA (Номер по каталогу: RK-61CT)

### Описание

Система радиоиммунного анализа Тестостерон [<sup>125</sup>I] RIA позволяет проводить количественное определение in vitro тестостерона в сыворотке крови человека. Количественное определение тестостерона может проводиться в диапазоне 0-60 нмоль/л при использовании образцов сыворотки объемом 25 мкл. Каждый набор содержит материалы для 100 пробирок для количественного определения, что позволяет построить одну стандартную кривую и выполнить количественное определение 42 неизвестных образцов в двух экземплярах.

Тест подходит для обработки на автоматизированном оборудовании RIA.

### Введение

Уровень тестостерона в крови является важным показателем большого количества патологических состояний.

**Повышенная концентрация** тестостерона: у **мужчин** отмечается при следующих заболеваниях: преждевременное половое созревание, врожденный дефицит 21-гидроксилазы, гиперплазия надпочечников (синдром Кушинга), опухоли яичка

у **женщин**: опухоли яичников или эндометрия, синдром Штейна-Левенталя, гиперплазией надпочечников (синдромом Кушинга), гирсутизм

Терапия гикокортикоидами

**Сниженная концентрация тестостерона:**

у **мужчин** отмечается при следующих заболеваниях: синдром Клайнфельтера, агонадизм, анорхизм, хрипторхизм, синдром Каллмана, аплазия клеток Лейдига, дефекты функции гипофиза

у **женщин**: постменопауза.

### Принцип метода

Метод основан на конкуренции между немеченым тестостероном и фиксированным количеством меченого <sup>125</sup>I тестостерона, за связывание с ограниченным количеством мест связывания на тестостерон-специфическом антителе.

При взаимодействии фиксированного количества метки и антитела с различными количествами немеченого лиганда количество метки, связанной с антителом, будет обратно пропорционально концентрации немеченого лиганда. Комплекс антиген-антителе связывается с твердой фазой (пробирки, покрытые антителами). Определение

радиоактивности твердой фазы позволяет построить стандартную кривую и провести количественный анализ образцов.

### Содержание набора

1 флакон	МЕТКИ, готовой для использования.
он	44 мл/флакон, содержит < 260 кБк тестостерона, меченого <sup>125</sup> I в буфере с красным красителем и 0,1% NaN <sub>3</sub> в качестве консерванта.
6 флаконов	СТАНДАРТА <sub>(1-6)</sub> , готовых для использования
оных	0.5 мл/флакон, содержащих 0 (S1), 0.6 (S2), 2 (S3), 6 (S4), 20 (S5), 60 (S6) нмоль/л в 0.5 мл сыворотке человека с 0.1% NaN <sub>3</sub> .
2 флакона	КОНТРОЛЬНОЙ СЫВОРОТКИ, готовой для использования
она	0.5 мл/флакон, содержащий сыворотку человека с 0.1% NaN <sub>3</sub> .
	<i>Концентрация контрольных сывороток указана в сертификате качества, который прилагается</i>
2 упаковки	ПРОБИРОК С ПОКРЫТИЕМ, готовых для использования.
вски	2x50 пластиковые пробирки, 12x75 мм, покрытых моноклональным анти-тестостерон антителом.
1 шт	Сертификат качества
1 шт	Листок-вкладыш

### Необходимые материалы и оборудование

Штатив для пробирок, полимерная пленка, высокоточные пипетки с одноразовыми наконечниками (25 и 400 мкл, 2 мл), вихревой смеситель, шейкер, абсорбирующая ткань, гамма-счетчик, дистиллированная вода.

### Рекомендуемые инструменты и оборудование

Высокоточные автоматические пипетки 400 мкл, диспенсер с резервуаром вместо 2 мл пипетки

### Сбор и хранение образцов

Образцы сыворотки могут быть подготовлены в соответствии с общей процедурой, которая обычно используется в клинической лабораторной практике. Образцы сыворотки можно хранить при температуре 2-8°C в течение 2 дней после забора, иначе аликвоты должны быть сохранены в условиях глубокого замораживания.

Следует избегать повторного замораживания и размораживания. Не используйте липемические, гемолизированные или мутные образцы. Образцы с концентрацией тестостерона выше самой высокой концентрации стандарта следует развести провести анализ повторно.

### ВНИМАНИЕ!

Уравновесьте все реактивы и образцы сыворотки при комнатной температуре. Перед использованием тщательно

перемешайте все реактивы и образцы. Избегайте чрезмерного пенообразования.

### Процедура количественного определения

(Краткое описание)

1. Промаркируйте в двух экземплярах пробирки с покрытием для каждого стандарта (S1-S6), контрольных сывороток (CI, CII) и образцов (Px). При желании промаркируйте две пробирки для подсчета общей радиоактивности (T).
2. С помощью пипетки поместите **25 мкл СТАДАРТА, КОНТРОЛЬНОЙ СЫВОРОТКИ и ОБРАЗЦОВ** в предварительно промаркированные пробирки
3. С помощью пипетки поместите в каждую из пробирок **400 мкл МЕТКИ**.
4. Прочно зафиксируйте штатив на шейкере. Закройте все пробирки полимерной пленкой. Включите шейкер и настройте скорость, подходящую для того, чтобы жидкость в каждой пробирке постоянно вращалась и перемешивалась.
5. Инкубируйте пробирки в течение 2 часов при комнатной температуре (20-25 °C).
6. Отберите или перелейте супернатант из всех пробирок путем переворачивания штатива. В перевернутом состоянии поместите штатив на фильтровальную бумагу на 2 минуты.
7. Добавьте в каждую пробирку по **2,0 мл ДИСТИЛЛИРОВАННОЙ ВОДЫ** и повторите шаг 6.
8. Рассчитайте радиоактивность каждой пробирки в гамма-счетчике в течение как минимум 60 секунд.
9. Рассчитайте концентрацию тестостерона в образцах в соответствии с методикой расчета или с помощью специального оборудования.

**Внимание!** Более высокая температура инкубации может привести к ложным результатам. Пожалуйста, соблюдайте рекомендуемый диапазон температур во время инкубации.

**Таблица 1. Протокол исследования, методика введения (все объемы представлены в микролитрах)**

	T	S <sub>1-6</sub>	P <sub>x</sub>	C <sub>1-11</sub>
Стандарт		25		
Образец			25	
Контроль				25
Метка	400	400	400	400
Перемешайте в течение 2 часов при комнатной температуре (20-25 °C)				
Слейте жидкость и поместите на фильтровальную бумагу				
Дистиллированная вода		2000	2000	2000
Слейте жидкость и поместите на фильтровальную бумагу				
Рассчитайте радиоактивность (60 сек/пробирка)				
Подсчитайте результаты				

### Расчет результатов

Расчет результатов представлен с использованием репрезентативных данных. Полученные данные должны быть сходными с данными, представленными в Таблице 2.

Рассчитайте среднее значение в минуту (CPM) для каждой пары исследуемых пробирок.

Рассчитайте процент связывания B<sub>0</sub>/T для нулевого стандарта (S<sub>1</sub>) по следующей формуле:

$$B_0/T \% = 100 * S_1 / T$$

Рассчитайте нормализованный процент связывания для каждого стандарта, контроля и образца по следующей формуле:

$$B/V_0 \% = 100 * (S_{2-6} ; C_{1-11} ; P_x) / S_1$$

Используя полулогарифмическую миллиметровую бумагу, постройте график B/V<sub>0</sub> (%) для каждого стандарта относительно соответствующей концентрации тестостерона. На рисунке 1 представлено изображение типичной стандартной кривой.

Определите концентрацию тестостерона в неизвестных образцах методом интерполяции по калибровочной кривой. Не рекомендуется экстраполировать значения, выходящие за пределы диапазона стандартной кривой.

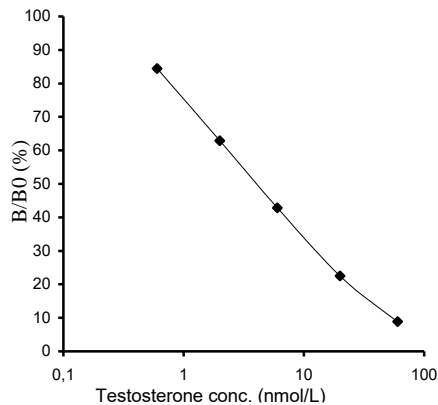
Для автоматической обработки полученных данных можно использовать логит-преобразование или слайд подбор.

**Таблица 2. Типичные данные количественного определения**

Пробирки	значени е CPM1	значени е CPM2	Средне е значени е CPM	Vo/T %	B/Vo %
T	81805	81299	81552		
S1	33103	32440	32772	40.2	

S2	28228	27079	27654		84.4
S3	21193	20005	20599		62.9
S4	13432	14645	14039		42.8
S5	7413	7334	7374		22.5
S6	2853	2940	2897		8.8
CI	23129	22780	22955		70.0
CI	9044	8967	9006		27.5

**Рисунок 1.**  
Типичная стандартная кривая  
(Не использовать для расчета значений неизвестных образцов)



**Преобразование в единицы СИ** можно выполнить по следующей формуле:

$$1 \text{ нг/мл} = 3.47 \text{ нмоль/л}$$

$$1 \text{ нмоль/л} = 0.29 \text{ нг/мл}$$

### Характеристика количественного определения

#### Чувствительность

Аналитическая чувствительность 0,12 нмоль/л была получена путем анализа 20 повторов нулевого стандарта. Чувствительность определяли как концентрацию, соответствующую сумме средних значений срт и удвоенной величины стандартного отклонения

Предел холостого раствора (ПХ), Предел обнаружения (ПО) и Предел количественного определения (ПКО) были определены в соответствии с руководством CLSI документ EP17.

Предел холостого раствора (ПХ): 0.075 нмоль/л

Предел обнаружения (ПО): 0.14 нмоль/л

Предел количественного определения (ПКО): 0.21 нмоль/л

Функциональная чувствительность равна пределу количественного определения (ПКО).

#### Специфичность

К нулевому стандарту добавляли различные гормоны в двух концентрациях (A=70 нмоль/л, B=700 нмоль/л). Измеренные кажущиеся концентрации тестостерона приведены ниже.

Добавленные гормоны	70 нМ	700 нМ
	Измеренные концентрации тестостерона нМ	
Эстриол	0.1	0.31
11-дезоксикортизол	0.04	0.66
Андростандиол	0.1	0.73
Андростендиол	0	1.03

Кортизол	0.2	1.55
17-β-эстрадиол	0.17	1.58
5-β- дигидротестостерон	0.39	8.52
5-α- дигидротестостерон	0.83	12.66
Андростендион	1	15.9
Норэтистерон	1.34	16.79

Неизмеряемые концентрации были получены для следующих гормонов, добавленных в количестве 700 нмоль/л: 17-α-ОН-прогестерон, ДГЭА, прогестерон, альдостерон, кортизон, преднизолон, дексаметазон, прегненолон, прегненолон-сульфат, кортикостерон, дезоксикортикостерон, норэтистерон-ацетат, эстрон. Перекрестная реактивность ДГЭА-S была оценена при 30 мкмоль/л, измеренная кажущаяся концентрация тестостерона составила 0,43 нмоль/л.

### Точность и воспроизводимость

Для определения внутрисубъектной вариабельности было проанализировано 5 образцов сыворотки человека по 20 повторов. Для определения межсубъектной вариабельности образцы были проанализированы дважды в ходе 20 независимых анализов. Ниже представлены полученные значения.

Внутрисубъектная вариабельность		Межсубъектная вариабельность	
Среднее значение нмоль/л	CV%	Среднее значение нмоль/л	CV%
0.99	7.27	0.98	12.03
2.17	8.91	2.20	10.81
6.76	7.16	6.52	8.34
12.87	3.04	13.02	7.09
33.54	2.77	34.94	6.40

### Линейность – тест на разведение

4 индивидуальных образца сыворотки были серийно разведены сывороткой человека с низкой концентрацией тестостерона и измерены в соответствии с протоколом набора. Среднее восстановление после разведения составило 81,79 %. Следующее уравнение, полученное для фактической (Y) относительно ожидаемой (X) концентрации демонстрирует хорошую линейность:

$$Y = 0.9496X - 0.8119 \quad R^2 = 0.9961 \quad n = 12$$

### Восстановление

Под восстановлением понималось зафиксированное увеличение, выраженное в процентах от ожидаемого роста пиков в образцах сыворотки крови с известным количеством тестостерона. Для 5 образцов сыворотки крови с тестостероном на 3 уровнях были получено среднее значение 92.7 % с диапазоном 81.85-103.34 %.

### Референтные значения

Диапазон для **мужчин**: 5.6 - 30.8 нмоль/л (2.5 - 97.5%)

Среднее значение±CO: 15.14 ± 5.7 нмоль/л медиана: 15.12 нмоль/л

Диапазон для **женщин**: 0.3 - 3.8 нмоль/л (2.5 - 97.5%)

Среднее значение±CO: 1.47 ± 0.66 нмоль/л медиана: 1.49 нмоль/л

Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория устанавливала собственные интервалы референтных значений.

Полученные результаты должны быть интерпретированы только в соответствии с общей клинической картиной. Ни один из диагностических наборов *in vitro* не может быть использован в качестве единственного доказательства наличия какого-либо заболевания или нарушения.

### Примечания к методике

1) **Источник ошибки!** Пробирки для проведения реакции упакованы в пластиковые коробки и не промаркированы индивидуально. Необходимо соблюдать осторожность, чтобы не перепутать их с обычными пробирками. Для минимизации риска ошибки не берите из пластиковой коробки больше пробирок, чем необходимо. Неиспользованные пробирки, оставшиеся после работы, положите обратно в коробку. Пробирки, используемые для анализа, рекомендуется помечать маркером.

2) **Источник ошибки!** Для обеспечения эффективного вращения, пробирки следует плотно установить на штативе. Никогда не используйте штативы с открытым отверстием. Неравномерное или неполное встряхивание может стать причиной низкого качества проведения анализа.

### Дополнительная информация

Не следует смешивать или заменять компоненты из различных партий или из наборов разных производителей

### Меры предосторожности

#### Радиоактивность

Данный набор содержит радиоактивный материал. Получение, хранение и обращение с радиоактивными материалами регулируются правилами и разрешениями национальных уполномоченных органов. Пользователь несет ответственность за соблюдение местных норм и правил.

#### Биологическая опасность

Продукты человеческой крови, использованные в наборе, были получены у здоровых доноров. Они были протестированы индивидуально с использованием утвержденных методов (иммуоферментный анализ). В результате проверки были получены отрицательные результаты на наличие антител к вирусу иммунодефицита человека (анти-ВИЧ-1/2), антител к вирусу гепатита С (анти-НСV), антитрепонемных антител и поверхностных антигенов вируса гепатита В (HBsAg). Следует всегда соблюдать осторожность при работе с человеческими образцами, предназначенными для тестирования диагностическими наборами. Даже если образец был протестирован, ни один метод не может гарантировать полного отсутствия инфекционных агентов. Следовательно, с образцами крови человека следует обращаться как с *потенциально инфекционно опасным материалом*.



### Химическая опасность



В качестве антибактериального агента компоненты содержат азид натрия. При утилизации отходы следует смывать большим количеством воды, чтобы предотвратить накопление взрывоопасных азидов металлов в системе водопровода, который может содержать части из меди и свинца. Содержание азидов в каждой упаковке составляет 48 мг.



### Условия хранения и срок годности



Хранить при температуре 2-8°C.



Срок годности: 60 дней с момента готовности

 Использовано  Номер партии

 Температурный предел  Контроль

 Внимание, обратитесь к сопроводительным документам  Стандарт

 Биологическая опасность  Пробирка с покрытием

 Обратитесь к инструкции по использованию  Метка

 Устройство для проведения диагностики *in vitro*  Производитель

 Номер по каталогу  Радиоактивный материал



Вебсайт: <http://www.izotop.hu>

Технический e-mail: [immuno@izotop.hu](mailto:immuno@izotop.hu)

Коммерческий e-mail: [commerce@izotop.hu](mailto:commerce@izotop.hu)



ООО «Институт изотопов».

1535 Budapest. Pf.: 851.

Тел.: (+36) 1-392-2577,

Факс: (+36) 1-395-9247

Обновлено: февраль 2022