



DiaSorin Inc
1951 Northwestern Ave – Stillwater, MN 55082 – USA
Tel. +1.651.439.9710 – Fax +1.651.351.5669



LIAISON® Testosterone (310410) Тестостерон

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Количественное определение тестостерона в человеческой сыворотке или плазме методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализаторов линейки LIAISON®.

Измерение уровня тестостерона используется в диагностике заболеваний, касающихся мужской половой гормональной функции (андрогенной), включая первичный и вторичный гипогонадизм, преждевременное или позднее половое созревание, импотенцию у мужчин, гирсутизм (оволосение по мужскому типу) и маскулинизацию у женщин, вызванные опухолями, СПКЯ и адреногенитальный синдром.

2. ВВЕДЕНИЕ

Тестостерон (4-androsten-17 β -ol-3-one)– андрогенный стероид, синтезирующийся как в организме мужчин, так и в организме женщин, хотя и в разных количествах: 2-11 нг/мл (7-38 нМ) у взрослых мужчин и 0,1-1 нг/мл (0,35-3,47 нМ) у взрослых женщин. Тестостерон с высокой степенью сродства связывается с глобулином, связывающим половые гормоны (ГСПГ), и, с меньшим сродством, с альбумином. До 97-99% тестостерона, циркулирующего в крови, находится в связанном состоянии. Для диссоциации гормона из комплекса с белками-носителями используются различные методики, в том числе экстракция органическими растворителями или использование замещающих и денатурирующих веществ.

В организме мужчин большая часть тестостерона синтезируется клетками Лейдига яичек, а также, в меньшей степени, надпочечниками. Секреция тестостерона характеризуется циркадным ритмом: утром его концентрация выше; с возрастом суточные различия содержания тестостерона уменьшаются. Определение тестостерона полезно для оценки функционального состояния яичек и надпочечников. В тканях-мишенях около 4-10% тестостерона метаболизируется до дигидротестостерона, основного мужского гормона. Тестостерон и дигидротестостерон ответственны за проявление мужских вторичных половых признаков, таких как рост волос, развитие внешних половых органов и увеличение мышечной массы. Пониженная концентрация тестостерона может привести к задержке полового созревания или бесплодию. Гипогонадизм может быть клиническим проявлением определенных хромосомных аномалий, таких как синдром Клейнфельтера. Повышенные концентрации тестостерона в крови могут указывать на наличие в организме андрогенпродуцирующих опухолей. В женском организме синтезируется примерно 5-10% тестостерона, синтезируемого в организме мужчин. Яичники и надпочечники вносят примерно равный вклад в продукцию тестостерона, основная часть гормона синтезируется из прегормонов, таких как андростенедион. Около 30% тестостерона женщин превращается в дигидротестостерон. Кроме того, тестостерон также метаболизируется до эстрадиола. Уровень тестостерона немного повышается во время фолликулярной фазы менструального цикла и достигает пика непосредственно перед овуляцией. Сывороточный тестостерон повышается во время беременности, но его концентрация не меняется при приеме оральных контрацептивов. Понижение концентрации тестостерона у женщин может быть вызвано недостаточностью или заболеваниями надпочечников, яичников, гипофиза или гипоталамуса, а также инфекцией ВИЧ. Повышение концентрации тестостерона наблюдается у женщин, страдающих гирсутизмом.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод количественного определения тестостерона представляет собой 1-ступенчатый прямой конкурентный хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA). Мышинные моноклональные антитела к тестостерону связаны с магнитными микрочастицами (твердая фаза), молекулы тестостерона мечены производным изолюминола (конъюгат антигена с красителем). Во время инкубации молекулы тестостерона, присутствующие в калибраторах, контролях и пробах, диссоциируют из комплекса со связывающим белком и конкурируют с молекулами конъюгата за связывание с антителами твердой фазы. После инкубации не связавшиеся молекулы удаляются во время цикла промывки. Затем к реакционной смеси добавляются реактивы для активации, индуцирующие хемилюминесцентную реакцию. Интенсивность люминесценции, измеряемая с помощью фотоумножителя в относительных единицах интенсивности, отражает количество конъюгата тестостерона с изолюминолом, которое, в свою очередь, обратно пропорционально концентрации тестостерона в калибраторах, контролях и пробах пациентов.

4. СОСТАВ НАБОРА

1. Картридж реактивов

Магнитные частицы (2,4 мл)	Магнитные частицы, покрытые мышинными моноклональными антителами к тестостерону; фосфатный буфер; козьи иммуноглобулины; 0,2% Proclin® 300 (консервант).
Конъюгат (12 мл)	Тестостерон, меченный производным изолюминола (аминобутилэтилизолюминолом); фосфатный буфер; ПАВ; БСА; < 0,1% азид натрия.
Буфер (12 мл)	Фосфатный буфер, ПАВ, БСА; < 0,1% азид натрия.
Количество определений	100

Proclin® это зарегистрированная торговая марка Dow.

Порядок расположения реактивов в таблице отражает их расположение в картридже реактивов.

2. Помимо интегрального картриджа реактивов в состав набора входят по 2 пробирики:

Калибратор 1 (2 мл)	Калибратор 1, низкий: человеческая сыворотка, не содержащая гормон; 0,2% Proclin® 300 (консервант). Значения концентраций калибратора (нг/мл) определены с помощью внутреннего стандарта DiaSorin и зашифрованы в штрих-коде интеграла.
Калибратор 2 (2 мл)	Калибратор 2, высокий: человеческая сыворотка, не содержащая гормон; 0,2% Proclin® 300 (консервант). Значения концентраций калибратора (нг/мл) определены с помощью внутреннего стандарта DiaSorin и зашифрованы в штрих-коде интеграла.

Все реагенты готовы к использованию. Порядок реагентов отражает их взаиморасположение в реагентном интеграле.

Необходимые материалы не входящие в набор

Анализатор LIAISON®XL	Анализатор LIAISON®
Реакционные кюветы LIAISON® XL (каталожный номер X0016) Одноразовые наконечники LIAISON® XL (каталожный номер X0015) Набор запускающих реактивов LIAISON® XL (каталожный номер 319200) Системная / промывочная жидкость LIAISON® (каталожный номер 319100) Мешки для твердых отходов LIAISON® XL (каталожный номер X0025)	Реакционные модули LIAISON® (каталожный номер 319130) Набор запускающих реактивов LIAISON® (каталожный номер 319102) или набор запускающих реактивов LIAISON® XL (каталожный номер 319200) Реактив для ежедневной проверки анализатора LIAISON® (каталожный номер 319150) Системная / промывочная жидкость LIAISON® (каталожный номер 319100) Мешки для отработанных реакционных модулей LIAISON® (каталожный номер 450003) Набор растворов для обслуживания анализатора LIAISON® (каталожный номер 310990)

Дополнительные материалы, рекомендованные для работы

LIAISON® Набор контролей для тестостерона (каталожный номер 310411)

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

ТОЛЬКО ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ in vitro – Не для наружного или внутреннего применения у животных и людей.

Общая безопасность:

- Все образцы, биологические реагенты и материалы, используемые в анализе, должны считаться, как потенциально способные к передаче инфекционных агентов. Избегайте контакта с кожей, глазами или слизистыми оболочками. Соблюдайте условия Правил надлежащей промышленной гигиены во время анализа.
- Не употребляйте пищу, не пейте, не курите, не наносите косметику в лаборатории для анализов.
- Не пипетируйте растворы при помощи рта.
- Избегайте прямого контакта со всеми потенциально инфекционными материалами; используйте лабораторный халат, средств для защиты глаз / лица и одноразовые перчатки.
- Тщательно мойте руки в конце каждого исследования.
- Избегайте разбрызгивания или образования аэрозольных капель в процессе обращения, разбавления или перемещения образцов или реагентов. Любая протечка реагента должна быть дезактивирована при помощи 10% раствора отбеливателя (содержащего 0,5% гипохлорит натрия) и утилизирована, как потенциально инфекционная.
- Отработанные материалы должны быть утилизированы в соответствии с действующими нормативными положениями и руководствами агентств, имеющих юрисдикцию в отношении лаборатории, и нормативными положениями каждой страны.

- Не используйте наборы или компоненты после истечения срока годности, указанного на этикетке.


Химическая опасность и информация по безопасности:

Реагенты в данном наборе классифицированы в соответствии со Стандартом информирования об опасных веществах OSHA США (Федеральное агентство по охране труда и здоровья); отдельными законами США о праве на информацию; Канадским центром по охране труда и промышленной безопасности и сводом нормативных постановлений, касающихся контролируемых видов продукции; и применимыми директивами Европейского Союза (смотрите Паспорт безопасности материала для получения дополнительной информации).

Реагенты, содержащие человеческий исходный материал:

Предупреждение – Обращаться, как с потенциально инфекционным материалом. Любая сыворотка / плазма, полученная от донора, используемая в ходе приготовления данного продукта, была исследована методами, одобренными Управлением по контролю пищевых продуктов и лекарственных средств США, и дала отрицательный результат на присутствие антител к вирусу иммунодефицита человека 1 и 2 (ВИЧ 1/2), поверхностному антигену вируса гепатита В (HBsAg) и антитела к гепатиту С (ВГС). Несмотря на то, что указанные методы являются высокоточными, они не гарантируют обнаружение всех инфекционных единиц. Данный продукт может также содержать иные заболевания человека, для которых одобренный тест отсутствует. Поскольку ни один известный метод исследования не может дать полной гарантии отсутствия ВИЧ, вируса гепатита В (ВГВ) и ВГС или иных инфекционных агентов, то со всеми продуктами, имеющими в составе материал человеческого происхождения, следует обращаться с соблюдением универсальных мер предосторожности; и в соответствии с надлежащей лабораторной практикой, как указано в действующих руководствах Центров контроля заболеваний и Национальных институтов здоровья, в соответствии с правилами Биологической безопасности в микробиологических и биомедицинских лабораториях; или в соответствии с действующей редакцией Руководства Всемирной организации здравоохранения по биологической безопасности лаборатории.

GHS (СГС)/ CLP (классификация, маркировка, упаковка):

	ProClin®	Азид натрия
Регистрационный номер:	55965-84-9	26628-22-8
РЕАГЕНТЫ:	SORB CONTROL 1 CONTROL 2	CONJ BUF AS
КЛАССИФИКАЦИЯ:	Сенсибилизация кожи, Категория 1	Не требуется
СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО:	Внимание	Не требуется
ОБОЗНАЧЕНИЕ ПИКТОГРАММЫ:	 GHS07 – Восклицательный знак	Не требуется
ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПАСНОСТИ:	H317 Может вызывать аллергическую реакцию на коже.	Не требуется
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ:	P261 Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/испарений/аэрозоля. P272 Не выносить загрязнённую одежду с места работы. P280 Пользоваться защитными	Не требуется

Реагенты, содержащие азид натрия: Азид натрия может вступать в реакцию со свинцовыми или медными водопроводными трубами и образовывать очень взрывоопасные азиды металла. При утилизации, промывайте большим количеством воды для предотвращения образования азидов. Для получения дополнительной информации, смотрите «Специальная обработка сточных труб лабораторной раковины для удаления азидных солей» в Руководстве по организационным мерам безопасности №CDC22, выданном Центрами контроля и предотвращения заболеваний, Атланта, Джорджия, 1976.

6. ПОДГОТОВКА ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ

Пожалуйста, обратите внимание на следующие важные меры предосторожности при работе с реагентами:

6.1 Ресуспендирование магнитных частиц

Магнитные частицы должны быть полностью ресуспендированы до того, как интеграл будет помещен в прибор. Чтобы обеспечить полное ресуспендирование частиц, выполните следующие действия:

Перед удалением алюминиевых мембран с флаконов, проверните колесо флакона с магнитными частицами, пока цвет суспензии не станет равномерно коричневым. Аккуратно перемешайте их содержимое, держа интеграл горизонтально, чтобы избежать пенообразования. Осмотрите нижнюю часть флакона, чтобы убедиться, что все магнитные частицы

были ресуспендированы.

При необходимости повторите процедуру до полного ресуспендирования магнитных частиц.

После удаления алюминиевой мембраны тщательно протрите поверхность каждого флакона для удаления остатков жидкости, если необходимо.

6.2 Вспенивание реагентов Чтобы обеспечить оптимальные рабочие характеристики интеграла, следует избегать пенообразования реагентов. Придерживайтесь приведенных ниже рекомендаций по предотвращению вспенивания:

Перед использованием интеграла осмотрите реагенты, чтобы убедиться в отсутствии пены. Если после ресуспендирования магнитных частиц пена появилась, поместите интеграл в анализатор и подождите, пока пена исчезнет. Интеграл готов к использованию только тогда, когда пена исчезла, а интеграл с ресуспендированными частицами находится на борту.

6.3 Установка интеграла в область загрузки реактивов

Анализатор LIAISON®

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 30 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

Анализатор LIAISON® XL

- Анализатор LIAISON® XL оснащен встроенным устройством для ресуспендирования магнитных частиц, которое помогает ресуспендировать микрочастицы до размещения интеграла с реагентами в области загрузки реактивов анализатора. Для уточнения деталей обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.
 - а. Вставьте интеграл с реагентами в специальный разъем.
 - б. Оставьте интеграл с реагентами в твердотельном магнитном устройстве, по крайней мере, на 30 секунд (допускается до нескольких минут). Повторите по мере необходимости.
- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 15 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

7. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Всегда храните интегралы в вертикальном положении, в противном случае последующее перемешивание магнитных частиц будет затруднено. Избегайте попадания прямых солнечных лучей.

Невскрытые реактивы стабильны до окончания срока годности при условии их хранения в темноте в вертикальном положении при температуре 2-8°C. Запрещается замораживать реактивы, входящие в состав картриджа. Запрещается использовать интеграл после окончания срока годности, указанного на этикетке интеграла. После использования вскрытого интеграла его необходимо заклеить лентой из набора реактивов для предотвращения испарения и хранить в темноте при температуре 2- 8°C. После вскрытия интеграла его содержимое стабильно в течение 4 недель при условии хранения при температуре 2-8°C в холодильнике в темноте или на борту анализатора.

8. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Сыворотка или плазма с ЭДТА. Рекомендуется исследовать пробы, полученные натощак (требование не строгое). Сыворотка/плазма должна быть отделена от клеток после забора крови как можно скорее. Допустимо использование пробирок для отделения плазмы. Для поддержания цельности пробы добавление дополнительных консервантов не требуется. Мутные, липемичные пробы, а также пробы с твердыми частицами и дебрисом эритроцитов перед исследованием могут потребовать дополнительной очистки путем фильтрации или центрифугирования. Не рекомендуется исследовать сильно гемолизированные и липемичные пробы, а также пробы с признаками бактериальной контаминации. Перед установкой пробы в анализатор необходимо удалить все пузыри с ее поверхности. Стабильность: 5 дней при температуре 2-8°C. Для более длительного хранения пробы должны быть заморожены при температуре -20°C или ниже в пластиковых или стеклянных пробирках. После разморозки пробу необходимо аккуратно перемешать. 6 проб с различной реактивностью были 4 раза заморожены-разморожены. Полученные результаты существенно не отличались друг от друга.

Минимально необходимый объем 300 µl (100 µl на исследование + 200 µl мертвый объем).

51 набор образцов сыворотки, SST и EDTA плазмы пациентов, охватывающих диапазон измерений теста на тестостерон LIAISON®, был протестирован в двух экземплярах для определения эквивалентности образца. Результаты проходящий Bablok линейного регрессионного анализа:

SST-Serum (Y) - Serum (X): $y = 1.02x + 1.6$, $R^2 = 1.0$.

EDTA Plasma (Y) - Serum (X): $y = 1.04x + 1.6$, $R^2 = 1.0$.

9. КАЛИБРАТОРЫ 1 и 2

LIAISON® калибраторы для тестостерона находятся в жидком состоянии и готовы к использованию. Штрих-коды находятся на емкостях с калибраторами. Аккуратными вращающимися движениями тщательно перемешайте содержимое емкостей; избегайте пенообразования. После использования калибраторы должны быть снова закрыты крышкой и возвращены на хранение при 2-8 °С. Открытое использование - 4 недели при правильном хранении. Во время обработки соблюдайте соответствующие меры предосторожности, чтобы избежать бактериального загрязнения калибраторов.

Интегральный номер партии калибратора и реагента зависит от партии. Не используйте калибраторы, соответствующие другой партии реагентов в одном и том же анализе.

10. КАЛИБРОВКА

Исследование калибраторов, входящих в состав интеграла, позволяет перекалибровать мастер-кривую, хранящуюся в памяти анализатора, с использованием значений концентрации калибраторов, зашифрованных в штрих-коде этикетки интеграла. Каждая емкость с калибраторами позволяет провести 6 калибровок.

Калибровка должна быть проведена в трех повторах в следующих случаях:

- Используется новая серия набора реактивов или набора запускающих реактивов.
- Прошло более 7 дней с момента последней калибровки.
- Было проведено обслуживание анализатора.
- Результаты исследования контрольных сывороток выходят за пределы допустимого диапазона. Проведите калибровку методики в соответствии с Инструкцией пользователя анализатора.

Диапазон измерения. Тест тестостерона DiaSorin LIAISON® измеряет до 15,0 нг / мл (1500 нг / дл).

Наименьшее регистрируемое значение составляет 0,05 нг / мл (5,0 нг / дл). Значения ниже 0,05 нг / мл (5,0 нг / дл) следует указывать как <0,05 нг / мл (<5,0 нг / дл). Наибольшее регистрируемое значение без разбавления составляет 15,0 нг / мл (1500 нг / дл).

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Строгое следование рекомендациям инструкции пользователя гарантирует получение корректных результатов.

Анализатор LIAISON®. Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в штрих-коде этикетки интеграла. Если информации с штрих-кода не читается, то картридж является непригодным к использованию. Не утилизируйте реагентный интеграл и свяжитесь с региональными представителями DiaSorin для получения дальнейших инструкций.

Анализатор LIAISON® XL. Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в радиочастотной метке интеграла. Если информации с радиочастотной метки не читается, то картридж является непригодным к использованию. Не утилизируйте реагентный интеграл и свяжитесь с региональными представителями DiaSorin для получения дальнейших инструкций.

Процедура анализа, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

1. Раскапывание калибраторов, контролей или проб в кюветы реакционного модуля.
2. Добавление магнитных частиц и буфера.
3. Инкубация.
4. Добавление конъюгата.
5. Инкубация.
6. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
7. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности флуоресценции.

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества рекомендуется выполнять ежедневно, или в соответствие с местными и/или федеральными нормативами. В качестве руководства к выполнению контроля качества рекомендуется использовать документ Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI) C24-A2 и 42 CFR 493.1256 ©

Контроли LIAISON® Testosterone предназначены для мониторинга значительного сбоя работы реагента. Контроли LIAISON® следует запускать в 1 повторности для контроля эффективности анализа. Если контрольные значения находятся в ожидаемых диапазонах, указанных в сертификате анализа, тест считается действительным. Если контрольные значения лежат вне ожидаемых диапазонов, тест недействителен, и результаты пациента не могут быть сообщены. Калибровку анализа следует проводить, если наблюдается сбой контроля. Контроль и тестирование образца пациента следует повторить.

Эффективность других контролей должна оцениваться на совместимость с данным анализом перед их использованием. Для всех используемых материалов контроля качества должны быть установлены соответствующие диапазоны значений.

Диапазон концентраций каждого контроля указывается в сертификате анализа и указывает пределы, установленные DiaSorin для контрольных значений, которые могут быть получены в ходе надежных анализов.

Контрольные значения должны лежать в ожидаемых диапазонах: всякий раз, когда один контролей находится за

пределами ожидаемых диапазонов, калибровку следует повторять, а контроли повторять. Если контрольные значения, полученные после успешной калибровки, многократно выходят за пределы предварительно определенных диапазонов, испытание следует повторить с использованием неоткрытого контрольного флакона. Если контрольные значения лежат вне ожидаемых диапазонов, результаты пациента не должны быть сообщены.

13. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ Анализатор автоматически рассчитывает концентрацию тестостерона в нг/мл. За более подробной информацией обратитесь к Инструкции пользователя. $\text{нмоль/л} = 3,47 \times \text{нг/мл}$, $\text{нг/мл} \times 100 = \text{нг/дл}$.

14. ОГРАНИЧЕНИЯ

Строгое следование инструкциям к прибору и реактиву необходимо для получения достоверных результатов. Бактериальная контаминация или повторяющееся замораживание-оттаивание пробы могут повлиять на результат исследования. Гетерофильные антитела в человеческой сыворотке могут взаимодействовать с иммуноглобулинами и/или другими веществами в реагентах, влияя на результат исследования. Пациенты, часто контактирующие с животными, их кровью, сывороткой, или иммуногенными материалами, которые могут вызывать выработку гетерофильных антител к компонентам реагентов, подвержены такому влиянию, из-за чего могут быть получены аномальные значения. Запрещается обмениваться интегралами между анализаторами LIAISON® и LIAISON® XL. Интеграл, однажды установленный на анализатор определенного типа, должен использоваться на этом анализаторе до самого конца. Такие измерения должны быть выполнены на одном конкретном типе анализатора (либо LIAISON®, либо LIAISON® XL).

15. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В соответствии с общепринятой лабораторной практикой каждая лаборатория должна установить собственные референсные значения, отражающие их типовую популяцию. В качестве ориентировочных значений можно использовать приведенные ниже данные. С помощью набора реактивов LIAISON® Testosterone было исследовано пробы здоровых мужчин и женщин. Полученные результаты приведены ниже:

Референсная группа (N)	Медиана, нг/мл (нг/дл)	Наблюдаемый 95% диапазон, нг/мл (нг/дл)
Мужчины (161) 18-49 лет	4,39 (439)	1,20 – 10,19 (120 – 1019)
Мужчины (132) ≥ 50 лет	4,53 (453)	1,95 – 8,95 (195 – 895)
Женщины (202) 18-49 лет	0,24 (24,0)	0,05 – 0,73 (5,0 – 73,0)
Женщины (127) ≥ 50 лет	0,22 (22,0)	0,08 – 0,51 (8,0 – 51,0)

Рассматривайте эти ограничения только как рекомендации. Для каждой лаборатории важно установить собственный референтный диапазон, представляющий типичную популяцию.

16. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛИЗА

16.1 Предел измерения параметров контрольного образца (LoB)

Согласно нормативу EP17-A2 Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI) предел измерения параметров контрольного образца для анализа LIAISON® Тестостерон составляет $\leq 0,031$ нг/мл (3,1 нг/дл).

* Предел бланка, или наибольшее значение, которое может наблюдаться в образце, не содержащем аналит, заменяет термин «аналитическая чувствительность»

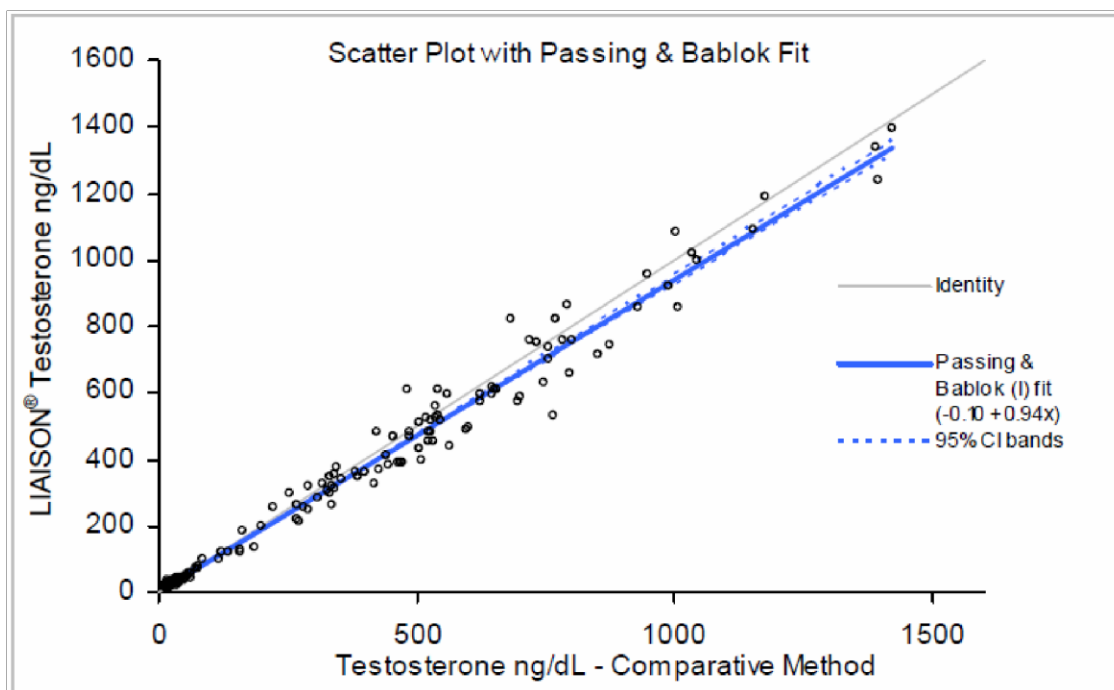
16.2 Предел чувствительности (LoD)

Согласно нормативу EP17-A2 Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI) предел чувствительности для анализа LIAISON® Тестостерон составляет 0,098 нг/мл (9,8 нг/дл).

16.3 Предел количественного анализа (LoQ) (также называется Функциональная чувствительность)

Согласно нормативу EP17-A2 Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI) предел количественного анализа для анализа LIAISON® Тестостерон определяется как концентрация с правильностью (%CV) превышающей 20%. Величина предела количественного анализа, полученная путем регрессивного анализа профиля правильности составляет 0,16 нг/мл (16,0 нг/дл).

16.4 Сравнение методик: 162 образца сыворотки, охватывающих весь измеряемый диапазон, были исследованы при помощи методики LIAISON® Тестостерон и коммерчески доступной иммунологической тест-системы. Сравнение методик было выполнено в соответствии с руководством EP9-A2 CLSI. Анализ результатов теста LIAISON® Тестостерон во всем диапазоне с помощью регрессии Пассинг и Баблок выявил следующую зависимость $y = 0,9458x - 0,0149$. 95% доверительные интервалы составили: для кривой от 0,092 до 0,096 и от -1,88 до 1,80 нг/дл для отрезка.



16.5 Правильность: Два контроля и шесть образцов сыворотки, содержащих различные концентрации анализируемого вещества, способные охватить весь измеряемый диапазон, были протестированы парами, в течение более чем 20 рабочих дней, по 2 теста в день, на трех различных анализаторах системы LIAISON® в трех различных лабораториях с использованием двух лотов реагентов, для определения повторяемости и воспроизводимости результатов теста. Анализ был выполнен согласно документам EP5-A2 CLSI.

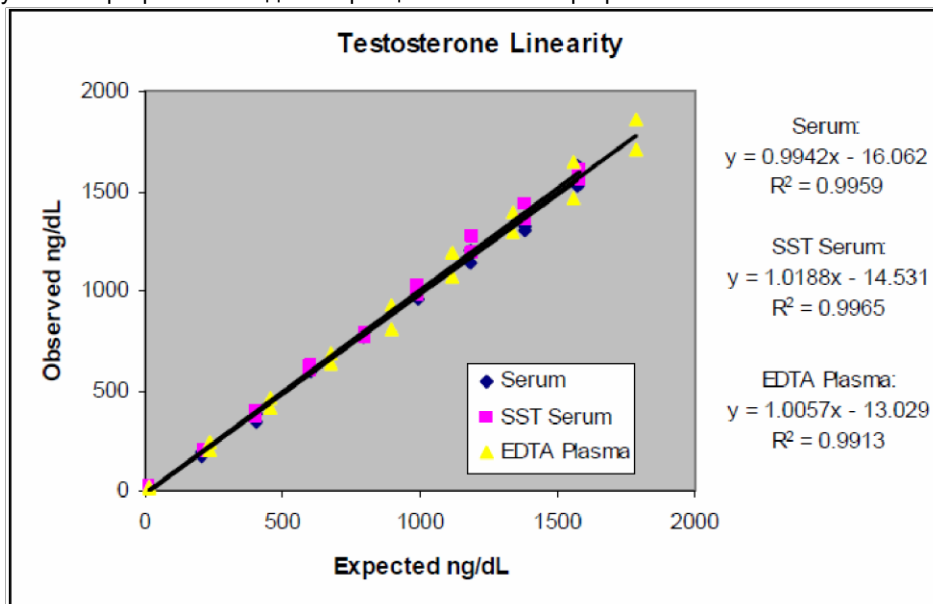
Результаты воспроизводимости/правильности – 20 дней, 3 лаборатории

ID образца	N	Среднее значение нг/дл	Внутри серии		Общее	
			Стандартное отклонение	%CV	Стандартное отклонение	%CV
Уровень 1	480	219	8,0	3,4%	20,0	9,1%
Уровень 2	480	781	22,0	2,8%	55,0	7,1%
Образец 1	480	37,0	3,0	7,3%	5,0	14,0%
Образец 2	480	83,0	5,0	5,5%	9,0	10,5%
Образец 3	480	237	11,0	4,5%	20,0	8,6%
Образец 4	480	418	18,0	4,3%	38,0	9,2%
Образец 5	480	1048	37,0	3,5%	94,0	9,0%
Образец 6	480	1325	42,0	3,2%	105	7,9%

16.6 Изучение линейности:

Три образца высокой концентрации каждого типа (сыворотка, сыворотка в пробирки для отделения сыворотки, плазма с ЭДТА) содержащие эндогенный, и/или добавочный тестостерон для достижения или превышения верхней границы измеряемого диапазона (1500 нг/дл) были разведены до более низких концентраций, охватывающих весь диапазон измерения. Полученные образцы были измерены тестом LIAISON® Тестостерон согласно документу EP6-A CLSI. Результаты каждого образца были проанализированы с помощью линейной регрессии (кривая, отрезок и R² критерия) полученных и ожидаемых концентраций тестостерона.

Сопоставление результатов регрессии каждого образца показано на графике.



16.7 Восстановление

Пять образцов сыворотки с высокой концентрацией (эндогенные и обогащенные) и пять образцов сыворотки с низкой концентрацией были смешаны друг с другом в трех соотношениях. Каждый чистый образец параллельно с каждым смешанным были измерены при помощи теста LIAISON® Тестостерон. Полученные результаты были сопоставлены с ожидаемыми, основанными на концентрациях в чистых образцах, для определения % восстановления. Среднее значение восстановления 97%.

Образцы сыворотки	Заданная концентрация	Ожидаемая нг/дл	Полученная Нг/дл	% Восстановления
Высокая проба 1 (ВП1)	1490			
2ВП1:1НП1		1026	1074	105%
1ВП1:1НП1		788	765	97%
1ВП1:2НП1		549	569	104%
Низкая проба 1 (НП1)	85,0			
Высокая проба 2 (ВП2)	1508			
2ВП2:1НП2		1072	1022	95%
1ВП2:1НП2		847	826	98%
1ВП2:2НП2		622	563	91%
Низкая проба 2 (НП2)	185			
Высокая проба 3 (ВП3)	1410			
2ВП3:1НП3		971	1012	104%
1ВП3:1НП3		745	706	95%
1ВП3:2НП3		518	535	103%
Низкая проба 3 (НП3)	79,0			
Высокая проба 4 (ВП4)	1240			
2ВП4:1НП4		940	853	91%
1ВП4:1НП4		785	784	100%
1ВП4:2НП4		631	586	93%
Низкая проба 4 (НП4)	331			
Высокая проба 5 (ВП5)	1444			
2ВП5:1НП5		1007 782	1025	102%
1ВП5:1НП5		557	706	90%
1ВП5:2НП5			527	95%
Низкая проба 5 (НП5)	120			
			Средняя восстановление	97%

16.8 Специфичность

Для изучения перекрестной реактивности анализа LIAISON® Тестостерон в контрольные образцы сыворотки были

добавлены нижеуказанные вещества. % Перекрестной реактивности = (Скорректированное значение/скачок концентрации)*100

Полученные значения перекрестной реактивности указаны ниже.

Перекрестный реактив	Концентрация нг/мл	% Перекрестной реактивности
Андростендион	100	≤ 4,27
Кортизол	1000	≤ 0,03
Кортизон	2000	≤ 0,01
Даназол	1000	≤ 0,02
Дексаметазон	2000	≤ 0,01
ДГЭА	1000	≤ 0,02
ДГЭА-С	50000	≤ 0,01
Д-5-Андростен-3В-17В-диол	1000	≤ 0,06
Эстрон	1000	≤ 0,03
Этистерон	1000	≤ 0,43
Нандролон	100	≤ 3,33
Норгестрел	1000	≤ 0,02
Тестостерона пропионат	50	≤ 7,48
5-а-Андростан-3В,17В-диол	500	≤ 0,81
5-а-Дигидротестостерон	500	≤ 2,37
11-В-Гидрокситестостерон	50	≤ 15,28
11-Кето-тестостерон	10	≤ 37,70
Преднизон	1000	≤ 0,03
Преднизолон	1000	≤ 0,04
Прогестерон	1000	≤ 0,12
17-а-Эстрадиол	1000	≤ 0,02

16.9 Интерферирующие вещества

Контрольные исследования потенциально интерферирующих веществ на двух уровнях тестостерона показали отсутствия влияния на концентрацию каждого из веществ, указанных ниже. Исследования *in vitro* были выполнены с учетом 19 распространенных веществ, влияния на результат теста LIAISON® Тестостерон выявлено не было. Исследование было проведено согласно документу CLSI-EP7-A2.

Вещество	Концентрация
Гемоглобин	600 мг/дл
Билирубин (несвязанный)	20 мг/дл
Триглицериды	1000 мг/дл
Холестерол	500 мг/дл
НАМА	1753 нг/дл

17 Литература

1. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, second edition, 1994, Burtis, C.A. and Ashwood, E.R., ed.
2. Klee, G.G. and Hesser, D.W. 2000 "Techniques to Measure Testosterone in the Elderly" Mayo Clin Proc, 75 (suppl) : S19-S25.
3. Rosner, W. 1976 "The Binding of Steroid Hormones in Human Serum" Prog Clin Biol Res, 5:377-395.
4. Pearce, S., Dowsett, M., and Jeffcoate, S.L. 1989 "Three Methods Compared for Estimating the Fraction of Testosterone and Estradiol Not Bound to Sex-Hormone-Binding Globulin" Clin Chem, 35:632-635.
5. Haning Jr, R.V., Carlson, I.H., Cortes, J., Nolten, W.E., and Meier, S. 1982 "Danazol and Its Principal Metabolites Interfere with Binding of Testosterone, Cortisol, and Thyroxin by Plasma Proteins" Clin Chem, 28:696-698.
6. Ismail, A.A.A., Astley, P., Cawood, M., Short, F., Wakelin, K., and Wheeler, M. 1986 "Testosterone Assays: Guidelines for the Provision of a Clinical Biochemistry Service" Ann Clin Biochem, 23:135-145.
7. Barini, A., Liberale, I., and Menini, E. 1993 "Simultaneous Determination of Free Testosterone and Testosterone Bound to Non-Sex-Hormone-Binding Globulin by Equilibrium Dialysis" Clin Chem, 39:936-941.
8. Feldman, H.A., Longcope, C., Derby, C.A., Johannes, C.B., Araujo, A.B., Coviello, A.D., Bremner, W.J., and McKinlay, J.B. 2002 "Age Trends in the Level of Serum Testosterone and Other Hormones in Middle-Aged Men: Longitudinal Results from the Massachusetts Male Aging Study" J Clin Endocrinol Metab, 87:589-598.
9. Sinha-Hikim, I., Arver, S., Beall, G., Shen, R., Guerrero, M., Sattler, F., Shikuma, C., Nelson, J.C., Landgren, B-M., Mazer, N.A., and Bhasin, S. 1998 "The Use of a Sensitive Equilibrium Dialysis Method for the Measurement of Free Testosterone Levels in Healthy, Cycling Women and in Human Immunodeficiency Virus-Infected Women" J Clin Endocrinol Metab, 83:1312-1318.
10. Wilke, T.J. and Utley, D.J. 1987 "Total Testosterone, Free-Androgen Index, Calculated Free Testosterone, and Free Testosterone by Analog RIA Compared in Hirsute Women and in Otherwise-Normal Women with Altered Binding of Sex-Hormone-Binding Globulin" Clin Chem, 33:1372-1375.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) C24-A3, Vol.26, No.25, Statistical Quality Control for Quantitative Measurements: Principles and Definitions; Approved Guideline - Third Edition.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) C28-A3, Vol.28, No.30; Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – Third Edition.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP5-A2, Vol.24, No.25, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline - Second Edition.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP6-A, Vol.23, No.16 Evaluation of Linearity of Quantitative Analytical Methods; Proposed Guideline- Approved Guideline.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP7-A2, Vol.25, No.27 Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline - Second Edition.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP9-A2-IR, Vol.30, No.17 Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition (Interim Revision).
17. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP17-A2, Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline.