



## Instructions for Use

# Free Testosterone RIA

IVD

CE

REF RIA-4369



96



DRG Instruments GmbH, Germany  
Frauenbergstraße 18, D-35039 Marburg  
Phone: +49 (0)6421-1700 0, Fax: +49 (0)6421-1700 50  
Website: [www.drg-diagnostics.de](http://www.drg-diagnostics.de)  
E-mail: [drg@drg-diagnostics.de](mailto:drg@drg-diagnostics.de)



DRG International, Inc., USA  
841 Mountain Ave., Springfield, NJ 07081  
Phone: (973) 564-7555, Fax: (973) 564-7556  
Website: [www.drg-international.com](http://www.drg-international.com)  
E-mail: [corp@drg-international.com](mailto:corp@drg-international.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, se usa solo la versión válida de la metodico técnico incluido aquí en el kit.**

**Utilisez seulement la version valide des Instructions d'utilisation fournies avec le kit.**

## Table of Contents / Inhaltsverzeichnis / Tabella die Contenuti / Tabla de Contenidos / Sommaire

1	INTENDED USE .....	3
2	PRINCIPLE OF THE METHOD .....	3
3	MATERIAL PROVIDED AND STORAGE .....	3
4	MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED .....	4
5	METHODOLOGY .....	4
6	PERFORMANCE CHARACTERISTICS .....	5
7	LIMITATION OF THE PROCEDURE .....	6
8	EXPECTED VALUES .....	6
9	WARNING AND PRECAUTIONS .....	6

1	VERWENDUNGSZWECK .....	7
2	TESTPRINZIP .....	7
3	MITGELIEFERTES MATERIAL UND LAGERUNG .....	8
4	ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL (NICHT MITGELIEFERT) .....	8
5	METHODIK .....	8
6	LEISTUNGSMERKMALE .....	10
7	GRENZEN DES VERFAHRENS .....	10
8	ERWARTETE WERTE .....	10
9	VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNUNGEN .....	11

1	USO PREVISTO .....	12
2	PRINCIPIO DEL METODO .....	12
3	MATERIALE IN DOTAZIONE E RELATIVA CONSERVAZIONE .....	12
4	MATERIALI RICHIESTI MA NON IN DOTAZIONE .....	13
5	METODOLOGIA .....	13
6	CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE .....	14
7	LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA .....	15
8	VALORI ATTESI .....	15
9	AVVERTENZE E PRECAUZIONI .....	15

1	USO .....	16
2	PRINCIPIOS DEL MÉTODO .....	16
3	MATERIAL SUMINISTRADO Y PRESERVACIÓN .....	16
4	MATERIAL REQUERIDO PERO NO SUMINISTRADO .....	17
5	METODOLOGÍA .....	17
6	CARACTERÍSTICOS DEL ENSAYO.....	18
7	LIMITACIÓN DEL PROCEDIMIENTO.....	18
8	VALORES ESPERADOS.....	19
9	ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES.....	19

1	UTILISATION .....	20
2	PRINCIPE DE LA METHODE.....	20
3	MATERIEL FOURNI ET ENTREPOSAGE .....	20
4	MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI .....	21
5	METHODOLOGIE.....	21
6	CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE .....	22
7	LIMITATION DE LA PROCEDURE .....	23
8	VALEURS ATTENDUES .....	23
9	DANGERS ET PRECAUTIONS.....	23
10	BIBLIOGRAPHY / LITERATUR / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHY.....	24
	SYMBOLS USED .....	25

IN VITRO DIAGNOSTIC USE. For professional use only

## 1 INTENDED USE

For IN VITRO determination of Free Testosterone (FT) levels in hirsutism and hypogonadism.

Free testosterone diffuses through cell membranes and binds to specific receptor proteins (androgen receptors); the Testosterone-receptor complexes act as transcriptional modulators on cis-regulatory regions of many genes.

Excess of Androgens in women causes hirsutism and signs of virilization; Testosterone level in serum has to be determined before and after ovarian and adrenal stimulation and suppression to identify the source of excessive hormone production.

Primary and secondary hypogonadism in men result in clinical hypoandrogenization, correlated with the degree of gonadal failure in Testosterone production. The determination of serum Testosterone together with that of LH allows the correct assessment of those conditions.

The diagnosis of true anorchia also requires to discriminate this condition from cryptorchidism. Under prolonged hCG stimulation, Testosterone levels remain very low in true anorchia while cryptorchid testes can respond to stimulation.

Androgen resistance syndromes, due to X linked androgen receptor gene deficiencies, are made of various degrees of sexual ambiguity. Whatever the severity of the phenotypical abnormalities, serum Testosterone is systematically high in regards to elevated LH serum levels in these conditions.

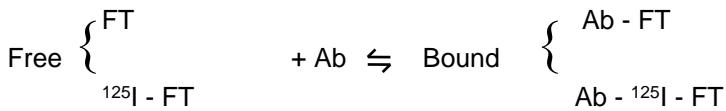
Testosterone assays include total testosterone (direct, extraction, coated tubes) and free testosterone determinations.

Total Testosterone in plasma includes free Testosterone and Testosterone bound to SHBG, albumin, CBG. The mean percentage of each in normal men is 2.7, 32, 65 and <0.1 respectively.

Solvents break the protein binding in extraction assays whereas blocking agents release Testosterone from proteins in direct assays. The advantage of a free testosterone assay is that free testosterone concentrations are in equilibrium with testosterone bound to receptors in the organs.

## 2 PRINCIPLE OF THE METHOD

The Free Testosterone (FT) RIA obeys the law of mass action according to the following equation :



Since the concentrations of  $^{125}\text{I}$  - FT and coated antibodies are constant, the advancing state of the equation depends on the concentration of FT. The amount of  $^{125}\text{I}$  - FT bound to the coated tube is inversely proportional to the concentration of FT in the sample.

Following the incubation, the tube is aspirated to remove excess unbound labelled T.

Patient sample concentrations are read from a calibration curve.

## 3 MATERIAL PROVIDED AND STORAGE

Stored at 2 °C - 8 °C, the material can be used up to the expiration date printed on each label.

1. **[TUBES]** 2 x 48 Polystyrene tubes (12 x 75 mm) coated with anti-Testosterone polyclonal antibodies. Systematically allow the coated tubes to reach roomtemperature (18 °C - 25 °C) before use.
2. **[Ag 125I]** yellow, 42 mL  
1 bottle of 125I-labelled FREE TESTOSTERONE analogue in protein based buffer containing < 0.1 % NaN<sub>3</sub> as preservative. Each bottle contains less than 185 Kbq (5 µCi)
3. **[CAL N]** 0.5 mL in each vial - N=0 to 6  
7 vials of FREE TESTOSTERONE in human serum containing preservative (NaN<sub>3</sub>< 0.1 %).  
The concentrations are printed on the labels.  
**(See exact values on vial labels)**
4. **[CONTROL N]** 2 vials, lyophilized - N=1 or 2  
2 vials of human plasma containing preservative (Thymol). The controls are to be assayed along with the patient samples. The ranges for the control sera are printed on the vial labels.  
**Before use, reconstitute the content of the controls with 0.5 mL of distilled water.**  
After reconstitution, the controls should be aliquoted and kept at -20 °C for maximum 3 months.  
**(See exact values on vial labels)**
5. **[WASH SOLN CONC.]** 70 x concentrated, 10 mL  
1 bottle concentrated buffered solution containing sodium azide (NaN<sub>3</sub> < 0.1 %).  
Poor the solution in 700 mL of distilled water.  
The reconstituted washing solution is stable for 2 weeks at 2 °C - 8 °C if covered with adhesive film to avoid contamination.

#### 4 MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- bench surfaces, protected by absorbent paper to reduce the effects of radioactive spillage.
- waste disposal containers, appropriately labelled and suitable for solid or liquid radioactive materials.
- manual or automated precision micropipettes for dispensing samples or reagents without cross-contamination.
- absorbent paper.
- vacuum pump, connected through a trap, for aspiration.
- water bath.
- a gamma scintillation counter
- appropriate graph paper for plotting the results.

#### 5 METHODOLOGY

##### 5.1 Collection and handling of blood samples

The blood sample can be collected into a dry tube.

After separation from the red blood cells, serum samples can be assayed immediately, within 24 hours if stored at 2 °C - 8 °C, or later, after a period of up to several months if stored at -20°C. Repeatedly freezing and thawing must be avoided.

##### 5.2 Assay procedure

Reagents stored at 2 °C - 8 °C must be brought at room temperature (18 °C - 25 °C) prior to use. Do not mix reagents of different lots. Label the tubes for T (« Total Counts » do not use coated tubes) calibrators, samples and controls.

Calibrators and controls should be mixed before use by inverting or swirling rather than vortexing.

Perform the assay in duplicate. Calibrators, controls and samples must be assayed at the same time.

Each tube can only be used once.

###### 1. Calibrator curve :

Pipette 50 µL of each calibrator into the corresponding tubes.

###### 2. Samples and controls:

Pipette 50 µL of each sample or control into the corresponding tubes.

3. Add 400 µL of 125I - TESTOSTERONE analogue tracer to each tube. Vortex and cover.

4. Incubate 2 hours at 37 °C ± 2 °C.

5. Carefully aspirate the solution of all tubes. (Except total counts tubes).

6. Add 2 mL of washing solution to each tube. Aspirate carefully. (Except total count tubes).

7. Add 2 mL of washing solution to each tube. Aspirate carefully. (Except total count tubes).

8. Count the radioactivity fixed in each tube for at least 60 seconds.

##### 5.3 Data processing

Determine the mean count rate for each set of duplicate tubes.

Calculate the ratio B/B0 as follows :

$$B/B0 \% = [Cal \text{ or } Sample \text{ cpm}_{mean} / B0 \text{ (Cal 0) cpm}_{mean}] \times 100$$

Draw the calibrator curve by plotting the ratio B/B0 % (linear scale) obtained for each calibrator versus its respective concentration expressed in pg/mL (logarithmic scale). FREE TESTOSTERONE concentrations in samples can be read directly from the calibrator curve.

If a computer is used to calculate the results, the data can be fitted to the appropriate equation: smoothed spline.

#### 5.4 Example of a typical assay

	Contents (pg/mL)	cpm 1 <sup>st</sup> duplicate	cpm 2 <sup>nd</sup> duplicate	Mean count rate	B/Bo (%)	Free Testosterone (pg/mL)
Total counts	-	52039	51647	51843	-	-
Cal 0	0	25839	25961	25900	100	-
Cal 1	0.3	21086	21170	21128	81.6	-
Cal 2	1	16509	16203	16356	63.2	-
Cal 3	3	12437	12428	12433	48	-
Cal 4	10	8317	7916	8117	31.3	-
Cal 5	30	5017	4711	4864	18.8	-
Cal 6	90	2611	2528	2570	9.9	-
C 1 low	1.5 – 2.9	13461	13557	13508	52.2	2.3
C 2 high	15 – 29	5736	5002	5369	20.8	21
Sample 1		17478	16742	16975	65.5	0.86
Sample 2		7538	7423	7481	28.9	11.5
Sample 3		4681	4645	4663	24.3	33

Example of a typical assay, do not use for calculations

## 6 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 6.1 Specificity

Steroid	% Cross-reactivity
Testosterone	100
5 $\alpha$ DHT	0.006
Andostenedione	0.02
$\beta$ estradiol	0.0003
DHEA-S	0.000001
Androsterone, Corticosterone, 11 DOC, estriol, estrone, progesterone, DHEA	N.D.

### 6.2 Detection Limit

The LoB (Limit of Blank) was calculated by measuring the blank several times and was calculated as the mean minus 1.65 standard deviations of the distribution of these values.

The LoB was calculated to be 0.08 pg/mL.

The LoD (limit of detection) was calculated as the LoB - 1.65 standard deviations of a low concentration sample tested in 10 different run.

The LoD was calculated to be 0.40 pg/mL.

### 6.3 Reproducibility

	Within assay variation		Between assay variation	
	Mean value (pg/mL)	10 replicates (% CV)	Mean value (pg/mL)	7 Separate assays in duplicate (% CV)
Pool 1	29.86	9.3	0.73	19.5
Pool 2	8.17	5.7	10.89	7.3
Pool 3	0.63	11.5	33.94	9.1

## 7 LIMITATION OF THE PROCEDURE

1. The results obtained from this or any other diagnostic kit should be used and interpreted only in the context of an overall clinical picture.
2. Do not use lipemic, haemolyzed, icteric or turbid specimens.
3. Do not use plasma samples

## 8 EXPECTED VALUES

It is recommended that each laboratory establishes its own reference values.

Age group	Males			Females		
	Number of subjects	Median pg/mL	Absolute Range pg/mL	Number of subjects	Median pg/mL	Absolute Range pg/mL
< 15 years	49	0,3	ND - 1,8	45	0,3	ND - 2,7
15 - 39 years	154	13,3	5,4 - 40,0	145	2,3	ND - 4,6
40 - 59 years	97	11,8	3,6 - 25,7	77	1,5	ND - 4,0
> 60 years	87	9,7	1,5 - 28,8	92	1,4	ND - 5,0

## 9 WARNING AND PRECAUTIONS

### For IN VITRO DIAGNOSTIC use only

#### CAUTION : Radioactive material

This kit contains I (half-life: 60 days), emitting ionizing X (28 keV) and (35.5 keV) radiations.

This radioactive product can be transferred to and used only by authorized persons; purchase, storage, use and exchange of radioactive products are subject to the legislation of the end user's country. In no case the product must be administered to humans or animals.

All radioactive handling should be executed in a designated area, away from regular passage. A logbook for receipt and storage of radioactive materials must be kept in the lab. Laboratory equipment and glassware, which could be contaminated with radioactive substances, should be segregated to prevent cross contamination of different radioisotopes.

Any radioactive spills must be cleaned immediately in accordance with the radiation safety procedures. The radioactive waste must be disposed of following the local regulations and guidelines of the authorities holding jurisdiction over the laboratory. Adherence to the basic rules of radiation safety provides adequate protection. Do not smoke, drink, eat or apply cosmetics in the working area. Do not pipette by mouth. Use protective clothing and disposable gloves.

For more information, see Safety Data Sheet (SDS).

#### WARNING : Sodium azide

Some components contain sodium azide as preservative agent ( $\text{NaN}_3 < 0.1\%$ ). Dispose of the reagents by flushing with large amount of water through the plumbing system.

#### WARNING : Potentially infectious material

Handle all components (and all patient samples) as if capable of transmitting viral diseases such as hepatitis B and C and the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS).

Source material derived from human body fluids or organs and used in the preparation of this kit were tested and found negative for HBsAg and anti-HCV by immunoassay. However, no known test can guarantee that such material does not contain the causative agent of viral hepatitis.

Likewise, all human materials used in the preparation of this kit were screened for the presence of antibodies against HIV-1 and -2 by enzyme-immunoassay and were found negative. However, absence of this antibody cannot guarantee the absence of the viral agent responsible for the acquired immunodeficiency syndrome.

FÜR IN VITRO-DIAGNOSTIK. Nur für professionelle Anwendung.

## 1 VERWENDUNGSZWECK

IN VITRO Bestimmung der Werte von freiem Testosteron (FT) bei Hirsutismus und Hypogonadismus.

Freies Testosteron diffundiert durch Zellmembranen und wird an spezifische Rezeptorproteine (Androgenrezeptoren) gebunden; die Testosteron-Rezeptor-Komplexe agieren als Transkriptionsmodulatoren auf cis-regulatorische Sequenzen vieler Gene.

Überhöhte Mengen an Androgenen bei Frauen verursachen Hirsutismus und Zeichen einer Virilisierung; der Serumtestosteronspiegel muss vor und nach ovarialer und adrenaler Stimulierung und Suppression bestimmt werden, um den Ursprung der überhöhten Hormonproduktion zu identifizieren.

Primärer und sekundärer Hypogonadismus bei Männern führen zu klinischer Hypoandrogenisierung, die mit dem Grad des Gonadenversagens bei der Testosteronproduktion in Zusammenhang steht. Die kombinierte Bestimmung von Serumtestosteron und LH erlaubt die korrekte Beurteilung dieser Erkrankungen.

Die Diagnose einer echten Anorchie erfordert die Differenzierung dieser Erkrankung vom Kryptorchismus. Unter verlängerter hCG-Stimulierung bleibt der Testosteronspiegel bei echter Anorchie sehr niedrig, während die Testes bei Kryptorchismus auf die Stimulierung reagieren können.

Androgenresistenzsyndrome aufgrund X-gebundener Androgenrezeptor-Gendefizienzen umfassen verschiedene Grade geschlechtlicher Ambiguität. Ungeachtet der Schwere der phänotypischen Anomalien ist das Serumtestosteron bei diesen Erkrankungen in Bezug auf die erhöhten LH-Serumwert systematisch erhöht.

Testosteron-Assays umfassen die Bestimmungen von Gesamttestosteron (direkt, Extraktion, beschichtete Röhrchen) und freiem Testosteron.

Gesamttestosteron im Plasma umfasst freies Testosteron und an SHBG, Albumin, CBG gebundenes Testosteron. Die jeweiligen Mittelwerte beim gesunden Mann sind respektive 2,7, 32, 65 und < 0,1.

In Extraktionsassays brechen Lösungsmittel die Proteinbindung auf, während in direkten Assays Blocker Testosteron von Proteinen freisetzen. Der Vorteil eines freies Testosteron-Assays besteht darin, dass die Konzentrationen an freiem Testosteron sich mit dem in den Organen an Rezeptoren gebundenen Testosteron im Gleichgewicht befinden.

## 2 TESTPRINZIP

Der Free Testosterone (FT) CT RIA unterliegt dem Gesetz der Massenwirkung nach der folgenden Gleichung:



Da die Konzentrationen an  $^{125}\text{I - FT}$  und beschichteten Antikörpern konstant sind, hängt der Fortgang der Gleichung von der Konzentration von FT ab. Die Menge an  $^{125}\text{I - FT}$ , die an die beschichteten Röhrchen gebunden ist, ist umgekehrt proportional zur FT-Konzentration in der Probe.

Nach der Inkubation wird das Röhrchen aspiriert, um Überschüsse an nicht gebundenem markiertem T zu entfernen. Die Konzentrationen der Patientenproben werden aus einer Standardkurve abgelesen.

### 3 MITGELIEFERTES MATERIAL UND LAGERUNG

Bei Lagerung bei 2 °C - 8 °C kann das Material bis zum Verfalldatum verwendet werden, das auf jedes Etikett gedruckt ist.

1. **[TUBES]** 2 x 48 Polypropylenröhrchen (12 x 75 mm), beschichtet mit polyklonalen Anti-Testosteron Antikörpern. Vor Gebrauch müssen die beschichteten Röhrchen Raumtemperatur (18 °C - 25 °C) erreicht haben.
2. **[Ag <sup>125</sup>I]** Gelb, 42 mL.  
1 Flasche mit <sup>125</sup>I-markiertem Freies Testosteron-Analog in einem Proteinpuffer mit Konservierungsmittel ( $\text{NaN}_3 < 0,1\%$ )  
Jede Flasche enthält weniger als 185 kBq (5 µCi).
3. **[CAL N]** 0,5 mL in jedem Gefäß – N = 0 bis 6.  
7 Gefäße FREIES TESTOSTERON in Humanserum mit Konservierungsmittel ( $\text{NaN}_3 < 0,1\%$ ).  
Die Konzentrationen sind auf den Etiketten angeführt.  
**(Siehe genaue Werte auf den Fläschchenetiketten)**
4. **[CONTROL N]** 2 Fläschchen, lyophilisiert – N = 1 oder 2.  
2 Gefäße Humanplasma mit Konservierungsmittel (Thymol). Die Kontrollen müssen gemeinsam mit den Patientenproben im Assay getestet werden. Die Bereiche für die Kontrollen sind auf die Gefäßetiketten gedruckt.  
Vor Gebrauch müssen die Kontrollen mit 0,5 mL destilliertem Wasser rekonstituiert werden.  
Nach dem Auflösen müssen die Kontrollen portioniert und bei -20 °C eingefroren werden. Bei -20 °C sind die Kontrollen für maximal 3 Monate stabil.  
**(Siehe genaue Werte auf den Fläschchenetiketten)**
5. **[WASH SOLN CONC]**, 70 x konzentriert, 10 mL.  
1 Flasche konzentrierte Pufferlösung mit Natriumazid ( $\text{NaN}_3 < 0,1\%$ ). Lösung in 700 mL destilliertes Wasser gießen.  
Die rekonstituierte Waschlösung ist bei 2 °C bis 8 °C 2 Wochen haltbar, wenn sie mit einem Klebefilm bedeckt ist, um eine Kontamination zu vermeiden.

### 4 ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL (NICHT MITGELIEFERT)

- Schutz für Arbeitstischoberflächen durch Saugpapier, um die Wirkung verschütteter radioaktiver Substanzen zu reduzieren.
- Geeignet gekennzeichnete Abfallbehälter für feste oder flüssige radioaktive Materialien.
- Manuelle oder automatisierte Präzisions-Mikropipetten zum Pipettieren von Proben oder Reagenzien ohne Kreuzkontamination.
- Saugpapier.
- Vakuumpumpe, verbunden über eine Falle, zum Absaugen.
- Wasserbad.
- Gegenlauf- oder Orbitalschüttler (max. 350 Upm).
- Gammaszintillationszähler.
- Geeignetes Millimeterpapier zum Auftragen der Resultate.

### 5 METHODIK

#### 5.1 Gewinnung und Handhabung von Blutproben

Die Blutprobe kann in ein trockenes Röhrchen eingebracht werden.

Nach der Trennung von den roten Blutkörperchen können Serumproben sofort getestet werden, bei Lagerung bei 2 °C - 8 °C innerhalb von 24 Stunden oder bei Lagerung bei -20 °C noch später, nach einem Zeitraum von bis zu mehreren Monaten. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden.

## 5.2 Testdurchführung

Bei 2 °C - 8 °C gelagerte Reagenzien müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18 °C - 25 °C) gebracht werden. Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen nicht vermischen.

Röhrchen für T („Total Counts – Gesamt“ keine beschichteten Röhrchen verwenden), Kalibratoren, Proben und Kontrollen beschriften. Kalibratoren und Kontrollen sollten vor Gebrauch eher durch Umdrehen oder Drehen als durch Vortexen gemischt werden.

Assay doppelt ausführen. Kalibratoren, Kontrollen und Proben müssen zugleich getestet werden. Jedes Röhrchen kann nur einmal verwendet werden.

### 1. Kalibratorkurve:

50 µL jedes Kalibrators in die entsprechenden Röhrchen pipettieren.

### 2. Proben und Kontrollen:

50 µL jeder Probe oder jeder Kontrolle in die entsprechenden Röhrchen pipettieren.

3. 400 µL <sup>125</sup>I - TESTOSTERON Analogtracer in jedes Röhrchen pipettieren. Vortexen und abdecken

4. 2 Stunden bei 37 °C ± 2 °C inkubieren.

5. Saugen Sie die Lösung aus allen Röhrchen vorsichtig ab (außer Röhrchen T).

6. 2 mL Waschlösung in jedes Röhrchen pipettieren. Sorgfältig absaugen (außer Röhrchen T).

7. 2 mL Waschlösung in jedes Röhrchen pipettieren. Sorgfältig absaugen (außer Röhrchen T).

8. In jedem Röhrchen fixierte Radioaktivität mindestens 60 Sekunden zählen.

## 5.3 Datenverarbeitung

Mittlere Zählrate für jedes Röhrchenpaar bestimmen.

Verhältnis B/B0 folgendermaßen bestimmen:

$$\text{B/B0 \%} = [\text{Cal oder Probe cpm}_{\text{Mittelwert}} / \text{B0 (Cal 0) cpm}_{\text{Mittelwert}}] \times 100$$

Kalibratorkurve zeichnen, indem das für jeden Kalibrator erhaltene Verhältnis B/B0 % (linear) gegenüber seiner jeweiligen in pg/mL ausgedrückten Konzentration (logarithmisch) aufgetragen wird. FREIES TESTOSTERON-Konzentrationen in den Proben können direkt aus der Kalibratorkurve abgelesen werden.

Wenn zur Berechnung der Resultate ein Computer verwendet wird, können die Daten in die geeignete Gleichung eingebracht werden: ‚Smoothed Spline‘.

## 5.4 Beispiel eines typischen Assay

	Inhalt (pg/mL)	cpm 1. Duplikat	cpm 2. Duplikat	Mittlere Zählrate	B/Bo (%)	Freies Testosteron (pg/mL)
Gesamt	-	52039	51647	51843	-	-
Cal 0	0	25839	25961	25900	100	-
Cal 1	0,3	21086	21170	21128	81,6	-
Cal 2	1	16509	16203	16356	63,2	-
Cal 3	3	12437	12428	12433	48	-
Cal 4	10	8317	7916	8117	31,3	-
Cal 5	30	5017	4711	4864	18,8	-
	90	2611	2528	2570	9,9	
C 1 niedrig	1,5 – 2,9	13461	13557	13508	52,2	2,3
C 2 hoch	15 – 29	5736	5002	5369	20,8	21
Probe 1		17478	16742	16975	65,5	0,86
Probe 2		7538	7423	7481	28,9	11,5
Probe 3		4681	4645	4663	24,3	33

Beispiel eines typischen Assay, nicht für Berechnungen verwenden.

## 6 LEISTUNGSMERKMALE

### 6.1 Spezifität

Steroid	% Kreuzreakтивität
Testosteron	100
5 $\alpha$ -DHT	0,006
Androstendion	0,02
$\beta$ -Östradiol	0,0003
DHEA-S	0,000001
Androsteron, Kortikosteron, 11 DOC, Östriol, Östron, Progesteron, DHEA	N.D

### 6.2 Nachweisgrenze

Die Leerwert-Grenze (LoB) wurde durch mehrmaliges Messen des Leerwerts berechnet und ist definiert als Mittelwert, abzüglich der 1,65-fachen Standardabweichung der Mehrfachmessung des Leerwertes.

LoB wird mit 0,08 pg/mL berechnet.

Die Nachweisgrenze (LoD) wurde als LoB - 1,65 Standardabweichung einer Probe mit niedriger Konzentration, die in 10 verschiedenen Assays getestet wurde, berechnet.

LoD wird mit 0,40 pg/mL berechnet.

### 6.3 Vergleichspräzision

	Intra-Assay-Variation		Inter-Assay-Variation	
	Mittelwert (pg/mL)	10 Wiederholungen (% CV)	Mittelwert (pg/mL)	7 separate Assays in Duplikat (% CV)
Pool 1	29,86	9,3	0,73	19,5
Pool 2	8,17	5,7	10,89	7,3
Pool 3	0,63	11,5	33,94	9,1

## 7 GRENZEN DES VERFAHRENS

1. Die durch diesen oder jeden anderen diagnostischen Testkit erhaltenen Resultate sollten nur im Kontext eines klinischen Gesamtbildes verwendet und interpretiert werden.
2. Keine lipämischen, hämolytischen, ikterischen oder getrübten Proben verwenden.
3. Keine Plasmaproben verwenden.

## 8 ERWARTETE WERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Referenzwerte erstellt.

Altersgruppe	Männer			Frauen		
	Anzahl der Personen	Median (pg/mL)	Absoluter Bereich (pg/mL)	Anzahl der Personen	Median (pg/mL)	Absoluter Bereich (pg/mL)
<15	49	0,3	ND - 1,8	45	0,3	ND - 2,7
15 - 39	154	13,3	5,4 - 40,0	145	2,3	ND - 4,6
40 - 59	97	11,8	3,6 - 25,7	77	1,5	ND - 4,0
> 60	87	9,7	1,5 - 28,8	92	1,4	ND - 5,0

## 9 VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNUNGEN

### Nur zur Verwendung in der IN VITRO DIAGNOSTIK!

#### VORSICHT: Radioaktives Material

Dieser Kit enthält  $^{125}\text{I}$  (Halbwertzeit: 60 Tagen), das ionisierende X (28 keV) und (35,5 keV) Strahlungen emittiert.

Dieses radioaktive Produkt kann nur an autorisierte Personen abgegeben und darf nur von diesen angewendet werden; Erwerb, Lagerung, Verwendung und Austausch radioaktiver Produkte sind Gegenstand der Gesetzgebung des Landes des jeweiligen Endverbrauchers. In keinem Fall darf das Produkt an Menschen oder Tieren angewendet werden.

Der Umgang mit radioaktiven Substanzen sollte fern von Durchgangsverkehr in einem speziell ausgewiesenen Bereich stattfinden. Ein Logbuch für Protokolle und Aufbewahrung muss im Labor sein. Die Laborausrüstung und die Glasbehälter, die mit radioaktiven Substanzen kontaminiert werden können, müssen ausgesondert werden, um Kreuzkontaminationen mit unterschiedlichen Radioisotopen zu verhindern. Verschüttete radioaktive Substanzen müssen sofort den Sicherheitsbestimmungen entsprechend entfernt werden. Radioaktive Abfälle müssen entsprechend den lokalen Bestimmungen und Richtlinien der für das Labor zuständigen Behörden gelagert werden. Das Einhalten der Sicherheitsbestimmungen für den Umgang mit radioaktiven Substanzen gewährleistet ausreichenden Schutz.

Bitte rauchen, trinken, essen Sie nicht in Ihrem Arbeitsbereich, und verwenden Sie keine Kosmetika. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Verwenden Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

Weitere Informationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt (SDS).

#### WARNUNG: Natriumazid

Einige Komponenten enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel ( $\text{NaN}_3 < 0,1\%$ ). Reagenzien durch Spülen mit reichlich Wasser über die Kanalisation entsorgen.

#### WARNUNG: Potenziell infektiöses Material

Gehen Sie mit allen Komponenten (und allen Patientenproben) so um, als ob sie virale Erkrankungen wie Hepatitis B und C und AIDS (acquired immunodeficiency syndrome) übertragen könnten.

Ausgangsmaterial aus menschlichen Körperflüssigkeiten oder Organen, die bei der Vorbereitung dieses Kits verwendet wurden, wurden getestet und für HBsAg und Anti-HCV durch Immunoassay für negativ befunden. Kein bekannter Test kann jedoch garantieren, dass solches Material nicht den Erreger viraler Hepatitis enthält.

Ebenso wurden alle Materialien menschlichen Ursprungs, die bei der Vorbereitung dieses Kits verwendet wurden, durch Enzym-Immunoassay auf die Anwesenheit von Antikörpern gegen HIV-1 und -2 getestet und für negativ befunden. Die Abwesenheit dieses Antikörpers kann jedoch nicht die Abwesenheit des viralen Erregers garantieren, der für AIDS verantwortlich ist.

USO DIAGNOSTICO IN VITRO. Solo per uso professionale

## 1 USO PREVISTO

Per la determinazione IN VITRO di livelli di Testosterone libero (FT) nell'irsutismo e nell'ipogonadismo.

Il testosterone libero si diffonde attraverso le membrane cellulari e si lega a specifiche proteine recettoriali (recettori androgeni); i complessi recettoriali del testosterone agiscono come modulatori di trascrizione nelle regioni di cis-regolazione di numerosi geni.

Un eccesso di androgeni nelle donne è causa di irsutismo e di segni di virilizzazione; il livello di testosterone nel siero deve essere determinato prima e dopo la stimolazione e la soppressione surrenale e ovarica per identificare l'origine dell'eccessiva produzione di ormone.

L'ipogonadismo primario e secondario negli uomini comporta l'ipoandrogenizzazione clinica correlata al grado di insufficienza gonadica nella produzione di testosterone. La determinazione del testosterone del siero unitamente alla determinazione di LH consente di valutare correttamente queste condizioni.

Per giungere alla effettiva diagnosi di anorchia è necessario differenziare la presente condizione dal criptorcidismo. In presenza di una stimolazione prolungata di hCG, i livelli di testosterone rimangono molto bassi in caso di anorchia effettiva, mentre i testicoli del criptorcidismo possono rispondere alla stimolazione.

Le sindromi da resistenza agli androgeni, dovute ad insufficienze dei geni recettoriali per gli androgeni associati alla X, sono composte da diversi livelli di ambiguità sessuale. Qualunque sia la gravità delle anomalie fenotipiche, il testosterone del siero risulta sistematicamente elevato tenuto conto dei livelli sierici elevati di LH riscontrabili in queste condizioni.

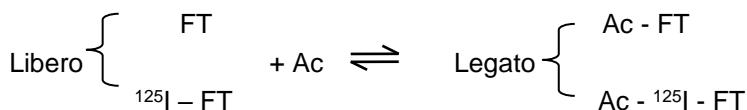
I test per il testosterone includono le determinazioni del testosterone totale (diretto, per estrazione, provette rivestite) e del testosterone libero.

Il testosterone totale nel plasma comprende il testosterone libero ed il testosterone legato a SHBG, albumina, CBG. La percentuale media di ognuno negli uomini normali risulta, rispettivamente, pari a 2,7, 32, 65 e < 0,1.

I solventi rompono il legame proteico nei test per estrazione, mentre nei test diretti gli agenti bloccanti liberano il testosterone dalle proteine. Il vantaggio di un test per il testosterone libero consiste nel fatto che le concentrazioni di testosterone libero sono proporzionali al testosterone legato ai recettori negli organi.

## 2 PRINCIPIO DEL METODO

Il Testosterone libero (FT) RIA CT obbedisce alla legge dell'azione di massa conformemente alla seguente equazione :



Dal momento che le concentrazioni di  $^{125}\text{I}$  - FT e di anticorpi rivestiti sono costanti, l'andamento dell'equazione dipende dalla concentrazione di FT. La quantità di  $^{125}\text{I}$  - FT legata alla provetta rivestita è inversamente proporzionale alla concentrazione di FT presente nel campione.

Dopo l'incubazione, la provetta viene aspirata per rimuovere l'eccesso di T etichettato non legato.

La concentrazione del campione paziente viene letta da una curva di calibrazione.

## 3 MATERIALE IN DOTAZIONE E RELATIVA CONSERVAZIONE

Se conservato a 2 °C - 8 °C, il materiale potrà essere utilizzato fino alla data di scadenza impressa su ciascuna etichetta.

1. **[TUBES]** 2 x 48 provette in polipropilene (12 x 75 mm) rivestite con anticorpi policlonali anti-testosterone.  
Lasciare sempre che le provette rivestite si portino a temperatura ambiente (18 °C - 25 °C) prima di utilizzazione.
2. **[Ag 125I]** giallo, 42 mL  
1 flacone di TESTOSTERONE Libero analogo etichettato  $^{125}\text{I}$  in tampone proteico con un conservante ( $\text{NaN}_3 < 0,1\%$ ). Ogni flacone contiene meno di 185 kBq (5  $\mu\text{Ci}$ )
3. **[CAL N]** 0,5 mL in ciascuna fiala – N = da 0 a 6  
7 fiale di TESTOSTERONE LIBERO in siero umano contenenti conservante ( $\text{NaN}_3 < 0,1\%$ ).  
Le concentrazioni sono stampate sulle etichette.  
**(Vedi i valori esatti sulle etichette dei flaconcini.)**
4. **[CONTROL N]** 2 flaconi, liofilizzati – N=1 o 2  
2 fiale di plasma umano contenenti conservante (Timolo). I controlli sono stati testati insieme ai campioni paziente. I range relativi ai controlli sono impressi sull'etichetta delle fiale.  
**Prima dell'uso, ricostituire il contenuto dei controlli con 0,5 mL di acqua distillata.**  
Dopo la ricostituzione, i controlli devono essere aliquotati e dovrebbero essere mantenuti a -20 °C per un massimo di 3 mesi.  
**(Vedi i valori esatti sulle etichette dei flaconcini.)**

5. **[WASH SOLN CONC]** 70 x concentrato, 10 mL  
 1 flacone di soluzione tamponata concentrata contenente sodio azide ( $\text{NaN}_3 < 0,1\%$ ).  
 Versare la soluzione in 700 mL di acqua distillata.  
 La soluzione di lavaggio ricostituita è stabile per 2 settimane a 2 °C – 8 °C se coperta con un film adesivo per evitare la contaminazione.

#### 4 MATERIALI RICHIESTI MA NON IN DOTAZIONE

- Superfici di banco protette con carta assorbente per ridurre gli effetti in caso di versamento di sostanze radioattive.
- Contenitore per smaltimento dei rifiuti appositamente etichettato ed adatto ai materiali radioattivi solidi o liquidi.
- Micropipette di precisione manuali o automatiche per l'erogazione di campioni o reagenti senza possibilità di contaminazione crociata.
- Carta assorbente.
- pompa a vuoto per aspirazione collegata tramite un sifone intercettatore
- Bagnomaria
- Agitatore a stantuffo oppure orbitale (max. 350 giri al minuto).
- Un contatore gamma a scintillazione
- Carta millimetrata idonea per tracciare i grafici dei risultati.

#### 5 METODOLOGIA

##### 5.1 Raccolta e manipolazione dei campioni di sangue

Il campione di sangue può essere raccolto in una provetta asciutta.

Dopo la separazione dai globuli rossi, sarà possibile testare i campioni di siero immediatamente, nell'arco delle 24 ore se conservati a 2 °C - 8 °C oppure dopo molti mesi se conservati a -20 °C. È necessario evitare ripetuti congelamenti e scongelamenti.

##### 5.2 Procedimento del test

Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente (18 °C - 25 °C) i reagenti conservati a 2 °C - 8 °C. Non miscelare reagenti provenienti da lotti diversi. Etichettare le provette dei calibratori T (« Conteggi totali » non utilizzare provette rivestite), campioni e controlli. I calibratori e i controlli devono essere mescolati prima dell'uso capovolgendoli oppure muovendoli vorticossalmente piuttosto che agitandoli in vortex.

Eseguire il test in duplice. Eseguire il test contemporaneamente a calibratori, controlli e campioni.

Ogni tubo può essere utilizzato una sola volta.

1. Curva di calibrazione:  
 Pipettare 50 µL di ciascun calibratore nelle provette corrispondenti.
2. Controllo e campioni:  
 Pipettare 50 µL di ciascun campione o del controllo nelle provette corrispondenti.
3. Aggiungere a ciascuna provetta 400 µL di TESTOSTERONE 125I tracciante analogo. Agitare in vortex e coprire.
4. Incubare per 2 ore a 37 °C ± 2 °C.
5. Aspirare con cautela la soluzione di tutte le provette (eccetto le provette dei conteggi totali).
6. Aggiungere a ciascuna provetta 2 ml di soluzione di lavaggio. Aspirare con cautela (eccetto le provette dei conteggi totali).
7. Aggiungere a ciascuna provetta 2 ml di soluzione di lavaggio. Aspirare con cautela (eccetto le provette dei conteggi totali).
8. Contare la radioattività fissata in ciascuna provetta per almeno 60 secondi (Cpm = Conta per minuto)

##### 5.3 Elaborazione dei dati

Determinare l'indice medio di conteggio relativo a ogni serie di provette in duplice.

Calcolare il rapporto B/B0 procedendo come segue:

$$\text{B/B0 \%} = [\overline{\text{Cpm Cal o Camp.}} / \overline{\text{Cpm B0 (Cal 0)}}] \times 100$$

Disegnare la curva di calibrazione tracciando il rapporto B/B0 % (scala lineare) ottenuto per ogni raffronto calibratore/rispettiva concentrazione, espresso in pg/mL (scala logaritmica). Le concentrazioni di TESTOSTERONE LIBERO nei campioni possono essere lette direttamente dalla curva di calibrazione.

Se si utilizza un computer per calcolare i risultati, i dati potranno essere inseriti alla seguente equazione: spline smussata.

#### 5.4 Esempio di test tipico

	Contenuto (pg/mL)	1° cpm duplicato	2° cpm duplicato	Media indice conteggio	B/Bo (%)	Testosterone libero (pg/mL)
Conteggi totali	-	52039	51647	51843	-	-
Cal 0	0	25839	25961	25900	100	-
Cal 1	0,3	21086	21170	21128	81,6	-
Cal 2	1	16509	16203	16356	63,2	-
Cal 3	3	12437	12428	12433	48	-
Cal 4	10	8317	7916	8117	31,3	-
Cal 5	30	5017	4711	4864	18,8	-
Cal 6	90	2611	2528	2570	9,9	-
C 1 basso	1,5 – 2,9	13461	13557	13508	52,2	2,3
C 2 alto	15 – 29	5736	5002	5369	20,8	21
Campione 1		17478	16742	16975	65,5	0,86
Campione 2		7538	7423	7481	28,9	11,5
Campione 3		4681	4645	4663	24,3	33

Esempio di test tipico, da non utilizzare per i calcoli

## 6 CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE

### 6.1 Specificità

Steroide	% Reattività crociata
Testosterone	100
5α DHT	0.006
androstenedione	0.02
β estradiolo	0.0003
DHEA-S	0.000001
Androsterone, Corticosterone, 11 DOC, estriolo, estrone, progesterone, DHEA	N.D.

### 6.2 Sensibilità

Il LoB (Limit of Blank, Limite del Bianco) è stato calcolato misurando il bianco più volte ed è la media - 1,65 deviazioni standard della distribuzione di questi valori.

Il LoB è calcolato a 0,08 µg/mL.

Il LoD (Limit of Detection, Limite di Detezione) è stato calcolato come il LoB (Limite del Bianco) - 1,65 deviazioni standard di un campione a bassa concentrazione testato in 10 diversi dosaggi.

Il LoD è calcolato a 0,40 µg/mL.

### 6.3 Riproducibilità

	Variabilità intra saggio		Variabilità inter saggio	
	Valore medio (pg/mL)	10 repliche (% CV)	Valore medio (pg/mL)	7 test separati in duplicato (% CV)
Gruppo 1	29,86	9,3	0,73	19,5
Gruppo 2	8,17	5,7	10,89	7,3
Gruppo 3	0,63	11,5	33,94	9,1

## 7 LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

1. Utilizzare e interpretare i risultati ottenuti con questo o con qualsiasi altro kit diagnostico esclusivamente nell'ambito di un quadro clinico generale.
2. Non utilizzare campioni lipemici, emolizzati, itterici o torbidi.
3. Non utilizzare campioni di plasma

## 8 VALORI ATTESI

Si consiglia a ciascun laboratorio di stabilire i propri valori di riferimento.

gruppo età	Maschi			Femmine		
	numero di persone	Mediana (pg/mL)	Intervallo assoluto (pg/mL)	numero di persone	Mediana (pg/mL)	Intervallo assoluto (pg/mL)
< 15	49	0,3	ND - 1,8	45	0,3	ND - 2,7
15 - 39	154	13,3	5,4 - 40,0	145	2,3	ND - 4,6
40 - 59	97	11,8	3,6 - 25,7	77	1,5	ND - 4,0
> 60	87	9,7	1,5 - 28,8	92	1,4	ND - 5,0

## 9 AVVERTENZE E PRECAUZIONI

### Solo per uso DIAGNOSTICO IN VITRO

#### ATTENZIONE: Materiale radioattivo

Il kit contiene  $^{125}\text{I}$  (emivita: 60 giorni) emettente raggi X (28 keV) e  $\gamma$  (35,5 keV) ionizzanti.

L'acquisto, a detenzione, l'utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale. In nessun caso il prodotto può essere somministrato ad esseri umani o animali.

Usare sempre guanti e camici da laboratorio quando si manipola materiale radioattivo. Le sostanze radioattive devono essere conservate in propri contenitori in appositi locali che devono essere interdetti alle persone non autorizzate. Deve essere tenuto un registro di carico e scarico del materiale radioattivo. Il materiale di laboratorio e la vetreria deve essere dedicato all'uso di isotopi specifici per evitare cross-contaminazioni.

In caso di contaminazione o dispersione di materiale radioattivo, fare riferimento alle norme locali di radioprotezione. I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti secondo le norme locali di radioprotezione. Lo scrupoloso rispetto delle norme per l'uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori.

Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici. Non pipettare i reattivi con pipette a bocca.

Per ulteriori informazioni, consultare la scheda di sicurezza (SDS).

#### AVVERTENZA: Sodio azide

Alcuni componenti contengono sodio azide come agente conservante ( $\text{NaN}_3 < 0,1\%$ ). Smaltire i reagenti attraverso il sistema idraulico risciacuando abbondantemente con acqua corrente.

#### AVVERTENZA: Materiali potenzialmente infettivi

Maneggiare tutti i componenti (e tutti i campioni paziente) alla stregua di sostanze in grado di trasmettere malattie quali epatite B e C e sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS).

Il materiale di origine ottenuto da liquidi corporei umani o da organi utilizzato per la preparazione del presente kit è stato testato ed è risultato, a seguito di test immunologico, negativo all'HbsAg e anti-HCV. Ciononostante nessun test noto è in grado di escludere completamente l'assenza da detti materiali di agenti in grado di provocare epatite virale.

Allo stesso modo tutti i materiali umani utilizzati nella preparazione del presente kit, sono stati analizzati, tramite test immunoenzimatico, per rilevare la presenza di anticorpi anti HIV 1 e HIV 2 e sono risultati negativi. Ciononostante, l'assenza di questo anticorpo non è in grado di garantire la completa assenza di agenti virali responsabili della sindrome da immunodeficienza acquisita.

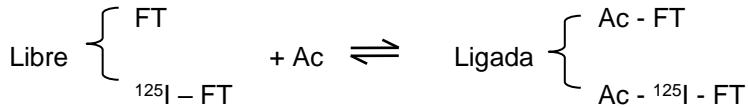
USO DIAGNÓSTICO IN VITRO. Solo para uso profesional.

## 1 USO

Para la determinación **IN VITRO** de los niveles de Testosterona Libre (FT) en hirsutismo y hipogonadismo. La testosterona libre se difunde a través de las membranas celulares y se liga a proteínas receptoras específicas (receptores andrógenos); los complejos receptores de testosterona funcionan como moduladores transcripcionales en regiones cis-reguladoras de muchos genes. Exceso de andrógenos en mujeres causa hirsutismo y señales de virilización; El nivel de testosterona en suero debe ser determinado antes y después del estímulo y de la supresión ováricos y suprarrenales para identificar el origen de la producción hormonal excesiva. Los hipogonadismos primario y secundario en hombres resultan en hipoandrogenización clínica, correlativa con el grado de falla renal en la producción de testosterona. La determinación de testosterona en suero con la determinación de LH permite la evaluación correcta de estas condiciones. El diagnóstico de anorquidia genuina también necesita la distinción entre esta condición y la criptorquidia. Con estímulo prolongado de hCG, los niveles de testosterona quedan muy bajos en anorquidia genuina mientras que testículos criptorquídicos pueden responder al estímulo. Síndromes de resistencia al andrógeno, debidos a deficiencias del gene receptor del andrógeno ligado al cromosoma X, son hechos de varios grados de ambigüedad sexual. Independientemente de la gravedad de las anomalías fenotípicas, la testosterona en el suero es sistemáticamente elevada en proporción con niveles elevados de LH en suero en estas condiciones. Ensayos para testosterona incluyen determinaciones de la testosterona total (directa, extracción, tubos recubiertos) y libre. La testosterona en plasma total incluye la testosterona libre y la testosterona ligada al SHBG, a la albumina, al CBG. El porcentaje medio de cada uno en hombres normales es respectivamente de 2,7, 32, 65 y <0,1. Solventes rompen la ligación proteica en ensayos de extracción mientras que reactivos de bloqueo liberan la testosterona de las proteínas en ensayos directos. La ventaja de un ensayo para testosterona es que las concentraciones de testosterona libre están en equilibrio con la testosterona ligada a los receptores en los órganos.

## 2 PRINCIPIOS DEL MÉTODO

El Free Testosterone (FT) CT RIA obedece al ley de la acción de masa según la siguiente ecuación :



Visto que las concentraciones de la  $^{125}\text{I}$  - FT y de los anticuerpos recubiertos son constantes, la evolución de la ecuación depieude de la concentración de FT. La cantidad de  $^{125}\text{I}$  - FT ligada al tubo recubierto es inversamente proporcional a la concentración de FT en la muestra.

Después de la incubación, el tubo es aspirado para quitar la T no ligada restante.

Las concentraciones de las muestras de los pacientes se leen de una curva de calibración.

## 3 MATERIAL SUMINISTRADO Y PRESERVACIÓN

**Guardado a 2 °C - 8 °C, el material puede ser utilizado hasta la fecha de caducidad indicada en cada etiqueta.**

1. **[TUBES]** 2 x 48 tubos de polipropileno (12 x 75 mm) recubiertos con anticuerpos policlonales anti-Testosterona. Permitir sistemáticamente que los tubos recubiertos alcancen temperatura ambiente (18 °C - 25 °C) antes de su empleo.
2. **[Ag 125I]** amarillo, 42 mL  
1 botella de análogo TESTOSTERONA Libre marcada con  $^{125}\text{I}$  en tampón con proteína y un preservativo ( $\text{NaN}_3 < 0,1\%$ ). Cada botella contiene menos de 185 Kbq ( 5  $\mu\text{Ci}$ )
3. **[CAL N]:** 0,5 mL en cada pomo - N=0 a 6  
7 pomos de TESTOSTERONA LIBRE en suero humano contiendo un preservativo ( $\text{NaN}_3 < 0,1\%$ ). Las concentraciones están indicadas en las etiquetas.  
**(Ver valores exactos en las etiquetas de los viales.)**
4. **[CONTROL N]:** 2 viales, liofilizados - N=1 or 2  
2 pomos de plasma humano contiendo un preservativo (Timol). Los controles deben ser probados al mismo tiempo que los muestras de los pacientes. Los alcances para los controles están indicados en las etiquetas de los pomos.  
**Antes de usar, reconstituya el contenido de los controles con 0,5 mL de agua destilada.**  
Después de la reconstitución, los controles deben ser en alícuotas y se deben mantenerse a -20 °C durante un máximo de 3 meses.  
**(Ver valores exactos en las etiquetas de los viales.)**

5. **[WASH SOLN CONC.]:** concentración x 70, 10 mL  
 1 vial de solución de lavado concentrada que contiene NaN<sub>3</sub> < 0.1 %.  
 Trasvasar la solución en 700 mL de agua destilada.  
 La solución de lavado reconstituida es estable durante 2 semanas a 2 °C - 8 °C si se cubre con una película adhesiva para evitar la contaminación.

#### 4 MATERIAL REQUERIDO PERO NO SUMINISTRADO

- Superficies de banco, protegido por papel secante para reducir los efectos del excedente radiactivo.
- Contenedores de residuos, marcados convenientemente y aptos para materiales radiactivos sólidos o líquidos.
- Micropipetas manuales o automáticas para dispensar las muestras o los reactivos sin contaminación cruzada.
- Papel secante.
- Bomba de vacío, vinculada por una válvula, para la aspiración.
- Baño María
- Agitador reciprocatante o orbital (max. 350 rpm).
- Un contador de radiaciones gama
- Papel gráfico apropiado para indicar los resultados.

### 5 METODOLOGÍA

#### 5.1 Colección y maneja de las muestras de sangre

La muestra de sangre puede ser coleccionada en un tubo seco.

Después de la separación de los globulos rojos, las muestras de suero pueden ser probadas inmediatamente, en 24 horas si se guardan a 2 °C - 8 °C, o más tarde, después de un período de unos meses se guardan a -20 °C. Evitar congelar y descongelar sucesivamente.

#### 5.2 Procedimiento del ensayo

Los reactivos guardados a 2 °C - 8 °C. deben ser a temperatura ambiente (18 °C - 25 °C) antes del uso. No mezclar reactivos de series diferentes. Marcar los tubos para T (« Cuentas Totales » no utilizar tubos recubiertos) calibradores, muestras y controles. Los calibradores y controles deben ser mezclados antes del uso por inversión o rotación ; no vortexear.

Hacer el ensayo en duplicado. Calibradores, controles y muestras deben ser probados a la misma hora.  
 Cada tubo solo se puede usar una vez.

1. Curva de calibración :  
 Pipetar 50 µL de cada calibrador en los tubos apropiados.
2. Muestras y sueros de control :  
 Pipetar 50 µL de cada muestra o suero de control en los tubos apropiados.
3. Añadir 400 µL de trazador análogo de <sup>125</sup>I - TESTOSTERONA a cada tubo.  
 Mezclar con un vortex y cover.
4. Incubar 2 horas a 37 °C ± 2 °C.
5. Prudentemente aspirar la solución de cada tubo. (Excepto los tubos de cuentas totales)
6. Añadir 2 ml de solución de lavado a cada tubo. Aspirar prudentemente. (Excepto los tubos de cuentas totales)
7. Añadir 2 ml de solución de lavado a cada tubo. Aspirar prudentemente. (Excepto los tubos de cuentas totales)
8. Contar la radiactividad fijada en cada tubo durante al menos 60 segundos.

#### 5.3 Procesamiento de los datos

Determinar la proporción de recuento media para cada juego de tubos en duplicado.

Calcular la razón B/B0 según :

$$B/B0 \% = [ \text{Cal o Smp cpm} / B0 (\text{Cal 0}) \text{ cpm} ] \times 100$$

Hacer la curva de calibración por la realización de la razón B/B0 % (escala lineal) obtenida para cada calibrador frente a su concentración respectiva expresada en pg/mL (escala logarítmica). Las concentraciones de TESTOSTERONA LIBRE en las muestras se pueden leer directamente de la curva de calibración.

Si se utilice un ordenador para calcular los resultados, los datos pueden ser utilizados en la ecuación apropiada: spline suavizado.

#### 5.4 Ejemplo de un ensayo típico

	Contenidos (pg/mL)	cpm 1 duplicado	cpm 2 duplicado	Proporción de recuento media	B/Bo (%)	Free Testosterone (pg/mL)
Cuentas totales	-	52039	51647	51843	-	-
Cal 0	0	25839	25961	25900	100	-
Cal 1	0,3	21086	21170	21128	81,6	-
Cal 2	1	16509	16203	16356	63,2	-
Cal 3	3	12437	12428	12433	48	-
Cal 4	10	8317	7916	8117	31,3	-
Cal 5	30	5017	4711	4864	18,8	-
Cal 6	90	2611	2528	2570	9,9	-
C 1 bajo	1,5 – 2,9	13461	13557	13508	52,2	2,3
C 2 elevado	15 – 29	5736	5002	5369	20,8	21
Muestra 1		17478	16742	16975	65,5	0,86
Muestra 2		7538	7423	7481	28,9	11,5
Muestra 3		4681	4645	4663	24,3	33

Ejemplo de un ensayo típico, no utilizar para cálculos

## 6 CARACTERÍSTICOS DEL ENSAYO

### 6.1 Especificidad

Esteroides	% Reactividad cruzada
Testosterona	100
5 $\alpha$ DHT	0.006
Andostenediona	0.02
$\beta$ estradiol	0.0003
DHEA-S	0.000001
Androsterona, Corticosterona, 11 DOC, estriol, estrona, progesterona, DHEA	N.D.

### 6.2 Límite de detección

El LoB (límite de blanco) se calculó midiendo el blanco varias veces y corresponde a la media - 1.65 desviación estándar de la distribución de estos valores.

El LoB se calcula a 0,08 pg/mL.

El LoD (límite de detección) se calculó como la LoB - 1.65 desviación estándar de una muestra de baja concentración analizada en 10 ensayos diferentes.

LoD se calcula en 0,40 pg/mL.

### 6.3 Reproducibilidad

	Dentro de la variación del ensayo		Entre la variación del ensayo	
	Valor medio (pg/mL)	10 réplicas (% CV)	Valor medio (pg/mL)	7 ensayos separados en duplicado (% CV)
Serie 1	29,86	9,3	0,73	19,5
Serie 2	8,17	5,7	10,89	7,3
Serie 3	0,63	11,5	33,94	9,1

## 7 LIMITACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

- Los resultados obtenidos de este o otro ensayo diagnóstico deben ser utilizados y interpretados solamente en el contexto de una vista clínica general.
- No utilizar especímenes lipémicos, hemolizados, ictéricos o turbios.
- No utilizar muestras plasmáticas

## 8 VALORES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio establece sus propios valores de referencia.

Grupo de edad	Hombres			Mujeres		
	número de personas	Media (pg/mL)	Alcance absoluto (pg/mL)	número de personas	Media (pg/mL)	Alcance absoluto (pg/mL)
< 15	49	0,3	ND - 1,8	45	0,3	ND - 2,7
15 - 39	154	13,3	5,4 - 40,0	145	2,3	ND - 4,6
40 - 59	97	11,8	3,6 - 25,7	77	1,5	ND - 4,0
> 60	87	9,7	1,5 - 28,8	92	1,4	ND - 5,0

## 9 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

### Para uso solo en diagnóstico IN VITRO

#### ADVERTENCIA : material radiactivo

Este kit contiene I<sup>125</sup> (vida media : 60 días) emisor de rayos X (28 keV) y de rayos γ (35.5 keV) ionizantes.

Este producto radiactivo solo puede ser manejado y utilizado por personas autorizadas; la compra, almacenaje, uso y cambio de productos radiactivos están sujetos a la legislación del país del usuario. En ningún caso el producto deberá ser suministrado a humanos y animales.

Todo el manejo de producto radiactivo se hará en una área señalizada, diferente de la de paso regular. Deberá de utilizarse un libro de registros de productos radiactivos utilizados. El material de laboratorio, vidrio que podría estar contaminado radiactivamente deberá de descontaminarse para evitar la contaminación con otros isótopos.

Cualquier derramamiento radiactivo deberá ser limpiado de inmediato de acuerdo con los procedimientos de seguridad. Los desperdicios radiactivos deberán ser almacenados de acuerdo con las regulaciones y normativas vigentes de la legislación a la cual pertenezca el laboratorio. El ajustarse a las normas básicas de seguridad radiológica facilita una protección adecuada.

No fumar, beber, comer ó utilizar cosméticos en el área de trabajo. No pipetejar con la boca. Utilizar ropa de protección y guantes.

Para obtener más información, consulte la hoja de datos de seguridad (SDS).

#### ADVERTENCIA : Azida sódica

Unos componentes contienen azida sódica como preservativo (NaN<sub>3</sub> < 0,1%). Tirar los reactivos con abundante agua en el alcantarillado.

#### ADVERTENCIA : Material potencialmente infeccioso

Manejar cada componente del ensayo (y cada muestra de paciente) como transmisor potencial de enfermedades virales como hepatitis B y C y el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA).

Los componentes derivados de fluidos o órganos humanos utilizados en la preparación de este ensayo han sido probados por inmunoensayo dando negativo a HBsAg y anti-HCV. Sin embargo, no se conoce ningún método que asegure que este material no contiene la causa de hepatitis viral.

Asimismo, cada componente humano utilizado en la preparación de este ensayo ha sido probado por inmunoensayo enzimático dando negativo a la presencia de anticuerpos anti-HIV-1 y -2. No obstante, la ausencia de este anticuerpo no puede garantizar la ausencia de un componente viral responsable del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida.

UTILISATION DIAGNOSTIQUE IN VITRO. Pour usage professionnel uniquement.

## 1 UTILISATION

Pour la détermination IN VITRO des taux en Testostérone Libre (FT) en cas de hirsutisme et de hypogonadisme.

La testostérone libre se diffuse à travers les membranes cellulaires et se lie à des protéines réceptrices spécifiques (récepteurs androgènes); les complexes récepteurs de Testostérone fonctionnent comme modulateurs de la transcription sur les régions cis-régulatoires de beaucoup de gènes.

Excès d'androgène chez des femmes cause l'hirsutisme et des signes de virilisation; les taux en testostérone dans le sérum doivent être déterminés avant et après la stimulation et la suppression ovariennes et surrénales pour identifier la source de la production excessive d'hormones.

Les hypogonadismes primaire et secondaire chez des hommes résultent en hypoandrogénisation en corrélation avec le degré de déficience gonadique dans la production de testostérone. La détermination de la testostérone sérique ensemble avec celle de la LH permet l'évaluation correcte de ces situations.

Le diagnostic de la vraie anorchie doit aussi distinguer cette situation du cryptorchidisme. Sous stimulation prolongée avec hCG, les taux en testostérone restent très bas en cas de vraie anorchie tandis que des testicules cryptorchides peuvent répondre à la stimulation.

Des syndromes de résistance aux androgènes, dus aux déficiences du gène récepteur d'androgènes lié au chromosome X, sont faits de différents degrés d'ambiguïté sexuelle. Indépendamment de la gravité des anomalies phénotypiques, la testostérone sérique est systématiquement élevée dans ces situations par rapport aux taux en LH élevés.

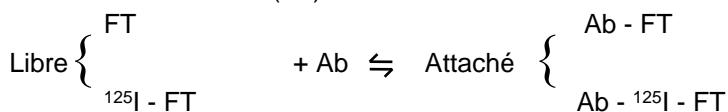
Les tests pour la testostérone incluent les déterminations de la testostérone totale (directe, extraction, tubes coatés) et de la testostérone libre.

La testostérone totale dans le plasma inclue la testostérone libre et liée au SHBG, à l'albumine, au CBG. Le pourcentage moyen de chacun dans des hommes normaux est respectivement de 2,7 ,32, 65 et <0,1.

Des solvants rompent la liaison protéique dans les tests d'extraction tandis que les réactifs de blocage libèrent la testostérone des protéines dans les tests directs. L'avantage d'un test de testostérone libre est que les concentrations en testostérone libre sont en équilibre avec la testostérone liée aux récepteurs dans les organes.

## 2 PRINCIPE DE LA METHODE

La Free Testostérone (FT) CT RIA obéit à la loi de l'action de masse selon l'équation suivante:



Puisque les concentrations en  $^{125}\text{I}$  – FT et les anticorps coatés sont constants, l'état d'avancement de l'équation dépend de la concentration en FT. L'importance de  $^{125}\text{I}$  – FT attaché au tube coqué est inversement proportionnelle à la concentration en FT dans l'échantillon.

Après l'incubation, le tube est aspiré afin de retirer l'excès du non attaché marqué T.

Les concentrations des échantillons du patient sont lues sur une courbe de calibration.

## 3 MATERIEL FOURNI ET ENTREPOSAGE

Entreposer à 2 °C - 8 °C, le matériel peut être utilisé jusqu'à la date d'expiration inscrite sur chaque étiquette.

1. [TUBES] 2 x 48 tubes en Polypropylène (12 x 75 mm) coatés avec des anticorps polyclonaux anti-Testostérone. Systématiquement, permettre aux tubes coatés d'atteindre la température ambiante (18 °C - 25 °C) avant utilisation.
2. [Ag 125I] Traceur - Jaune - 42 mL :  
1 flacon  $^{125}\text{I}$ -labelled analogue de Testostérone Libre dans un tampon protéique avec un préservateur ( $\text{NaN}_3 < 0,1\%$ ). Chaque flacon contient moins de 185 Kbq (5  $\mu\text{Ci}$ )
3. [CAL N] 0,5 mL dans chaque fiole - N=0 à 6  
7 fioles de FREE TESTOSTERONE en sérum humain contenant un préservateur ( $\text{NaN}_3 < 0,1\%$ ). Les concentrations sont indiquées sur les étiquettes.  
**(Voir les valeurs exactes sur les étiquettes des flacons.)**
4. [CONTROL N] 2 fioles lyophilisées - N= 1 ou 2  
2 fioles de plasma humain contenant un préservateur (Thymol). Les contrôles doivent être réalisés en même temps que les échantillons des patients. Les valeurs des contrôles sont indiquées sur les étiquettes des fioles.  
**Avant utilisation, reconstituer le contenu des contrôles avec 0,5 mL d'eau distillée.**  
Après reconstitution, les contrôles devraient être aliquotés et conservés à -20 °C pendant maximum 3 mois.  
**(Voir les valeurs exactes sur les étiquettes des flacons.)**

5. **[WASH SOLN CONC.]** 70 x concentré, 10 mL  
1 flacon de solution concentrée et tamponnée contenant de l'azoture de sodium ( $\text{NaN}_3 < 0,1\%$ ). Mettre en solution dans 700 mL d'eau distillée.  
La solution de lavage reconstituée est stable pendant 2 semaines à 2 °C – 8 °C si elle est recouverte d'un film adhésif pour éviter toute contamination.

#### 4 MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Les surfaces de travail doivent être protégées par du papier absorbant afin de réduire les effets des émanations radioactives.
- Conteneurs pour déchets correctement étiquetés et désignés comme étant appropriés pour le matériel radioactif liquide et solide.
- Micropipettes précises soit manuelles soit automatisées pour la préparation des échantillons ou des réactifs sans contamination croisée.
- Papier absorbant.
- Pompe à vide connectée à une trappe pour l'aspiration.
- Bain-marie
- Shaker horizontal (max 350 rpm)
- Un compteur de scintillation gamma.
- Un papier graphique approprié pour calculer les résultats.

### 5 METHODOLOGIE

#### 5.1 Collecte et maniement des échantillons de sang:

L'échantillon de sang peut être collecté dans un tube sec.

Après la séparation des globules rouges, les échantillons de sérum peuvent être utilisés immédiatement, dans les 24 heures s'ils sont entreposés à 2 °C - 8 °C ou plus tard, après une période pouvant aller jusqu'à plusieurs mois s'ils sont entreposés à -20 °C. Les congélations et décongélations répétées doivent être évitées.

#### 5.2 Procédure d'analyse

Les réactifs entreposés à 2 °C - 8 °C doivent atteindre la température ambiante (18 °C - 25 °C) avant toute utilisation. Il ne faut jamais mélanger les réactifs provenant de différents lots. Etiquetter les tubes pour T (« Total Counts » ne pas utiliser de tubes coatés) standards, échantillons et sérum de contrôle. Les standards et les contrôles doivent être mélangés en retournant ou en remuant plutôt qu'en agitant.

Réaliser les manipulations en double. Les standards, les contrôles et les échantillons doivent être préparés en même temps.

Chaque tube ne peut être utilisé qu'une seule fois.

##### 1. Courbe standard:

Pipetter 50 µL de chaque standard dans les tubes correspondants.

##### 2. Echantillons inconnus et contrôles:

Pipetter 50 µL de chaque échantillon dans les tubes correspondants.

3. Ajouter 400 µL du traceur  $^{125}\text{I}$  - TESTOSTERONE dans chaque tube. Mélanger avec un vortex et couvrir.

4. Incuber 2 heures 37 °C ± 2 °C.

5. Aspirez soigneusement la solution de tous les tubes. (à l'exception des tubes "Total Counts").

6. Ajouter 2 mL de solution de lavage dans chaque tube. Aspirer soigneusement (à l'exception des tubes "Total Counts").

7. Ajouter 2 mL de solution de lavage dans chaque tube. Aspirer soigneusement (à l'exception des tubes "Total Counts").

8. Compter la radioactivité fixée dans chaque tube pendant au moins 60 secondes.

#### 5.3 Traitement des données

Déterminer la moyenne pour chaque série de tubes.

Calculer le ratio B/B<sub>0</sub> de la manière suivante :

$$\text{B/B}_0 \% = [\overline{\text{Std or Smp cpm}} / \overline{\text{B0 (Std 0) cpm}}] \times 100$$

Dessiner la courbe standard en traçant le ratio B/B<sub>0</sub> % (échelle linéaire) obtenu pour chaque standard versus sa concentration respective exprimée en pg/mL (échelle logarithmique). Les concentrations en FREE TESTOSTERONE peuvent être lues directement à partir de la courbe standard.

Si un ordinateur est utilisé pour calculer les résultats, les données peuvent être ajustées par l'équation appropriée: 4-PL pondéré.

#### 5.4 Exemple d'une courbe typique

	Contenu (pg/mL)	cpm 1st duplicate	cpm 2nd duplicate	Mean count rate	B/Bo (%)	Free Testosterone (pg/mL)
Activité totale	-	52039	51647	51843	-	-
Cal 0	0	25839	25961	25900	100	-
Cal 1	0,3	21086	21170	21128	81,6	-
Cal 2	1	16509	16203	16356	63,2	-
Cal 3	3	12437	12428	12433	48	-
Cal 4	10	8317	7916	8117	31,3	-
Cal 5	30	5017	4711	4864	18,8	-
Cal 6	90	2611	2528	2570	9,9	-
C 1	1,5 – 2,9	13461	13557	13508	52,2	2,3
C 2	15 – 29	5736	5002	5369	20,8	21
Echantillon 1		17478	16742	16975	65,5	0,86
Echantillon 2		7538	7423	7481	28,9	11,5
Echantillon 3		4681	4645	4663	24,3	33

Exemple d'une estimation typique, à ne pas utiliser pour les calculs

## 6 CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

### 6.1 Spécificité

Stéroïde	% réactions croisées
Testostérone	100
5α DHT	0,006
Androstenedione	0,02
β estradiol	0,0003
DHEA-S	0,000001
Androsterone, Corticostérone, 11 DOC, Estriol, Estrone, Progesterone, DHEA	N.D.

### 6.2 Limite de détection

La LoB (Limite de Blanc) a été calculée en mesurant plusieurs fois le blanc et correspond à la moyenne - 1,65 écart type de la distribution de ces valeurs. La LoB a été calculée à 0,08 pg/mL.

La LoD (limite de détection) a été calculée comme étant le LoB - 1,65 écart-type d'un échantillon à faible concentration testé dans 10 essais différents. La LoD a été calculée à 0,40 pg/mL.

### 6.3 Reproductibilité

	Variation intra essai		Variation inter essai	
	Valeur moyenne (pg/mL)	10 replicates (% CV)	Valeur moyenne (pg/mL)	7 essais différents en double (% CV)
Pool 1	29,86	9,3	0,73	19,5
Pool 2	8,17	5,7	10,89	7,3
Pool 3	0,63	11,5	33,94	9,1

## 7 LIMITATION DE LA PROCEDURE

1. Les résultats obtenus à partir de ceci ou de tout autre kit de diagnostic devraient être utilisés et interprétés seulement dans le contexte d'une image clinique globale.
2. Ne pas utiliser d'échantillons lipémiques, hémolysés, ictériques ou troubles.
3. Ne pas utiliser d'échantillons plasma

## 8 VALEURS ATTENDUES

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs de référence.

Groupes d'âges	Hommes			Femmes		
	Nombre de sujets	Médiane (pg/mL)	Portée absolue (pg/mL)	Nombre de sujets	Médiane (pg/mL)	Portée absolue (pg/mL)
< 15	49	0,3	ND - 1,8	45	0,3	ND - 2,7
15 - 39	154	13,3	5,4 - 40,0	145	2,3	ND - 4,6
40 - 59	97	11,8	3,6 - 25,7	77	1,5	ND - 4,0
> 60	87	9,7	1,5 - 28,8	92	1,4	ND - 5,0

## 9 DANGERS ET PRECAUTIONS

### A utiliser uniquement pour des diagnostics in vitro

#### PRUDENCE: matériel radioactif

Cette trousse contient de l'<sup>125</sup>I (demi-vie: 60 jours), une matière radioactive émettant des rayonnements ionisants X (28 keV) et γ (35,5 keV).

Ce produit radioactif peut uniquement être reçu, acheté, possédé ou utilisé par des personnes autorisées; l'achat, le stockage, l'utilisation et l'échange de produits radioactifs sont soumis à la législation du pays de l'utilisateur final. Ce produit ne peut en aucun cas être administré à l'homme ou aux animaux.

Toutes les manipulations radioactives doivent être exécutées dans un secteur désigné, éloigné de tout passage. Un journal de réception et de stockage des matières radioactives doit être tenu à jour dans le laboratoire. L'équipement de laboratoire et la verrerie, qui pourrait être contaminée avec des substances radioactives, doivent être isolés afin d'éviter la contamination croisée de plusieurs isotopes.

Toute contamination ou perte de substance radioactive doit être réglée conformément aux procédures de radio sécurité. Les déchets radioactifs doivent être placés de manière à respecter les réglementations en vigueur. L'adhésion aux règles de base de sécurité concernant les radiations procure une protection adéquate.

Ne pas fumer, ni boire, ni manger ni appliquer de produits cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des vêtements protecteurs et des gants à usage unique.

Pour plus d'informations, consultez la fiche signalétique (SDS).

#### DANGER: azoture de sodium

Certains composants contiennent de l'acide de sodium comme agent préservatif (NaN<sub>3</sub> < 0,1%). Se débarasser des réactifs en versant de grande quantité d'eau par le système de plomberie.

#### DANGER: matériel potentiellement infectieux

Manipuler tous les composants (et tous les échantillons des patients) comme s'ils sont capables de transmettre des maladies virales comme l'hépatite B et C et le syndrome d'immunodéficience acquis (SIDA).

Le matériel d'origine provenant d'organes et de liquides du corps humain et utilisé dans la préparation de ce kit ont été testé et ont obtenu des résultats négatifs pour l'hépatite B et C antigène de surface par immunoessai. Cependant, aucun test connu ne peut garantir qu'un tel matériel ne contient pas d'agent causatif d'hépatites virales.

De plus, tous les matériaux humains utilisés dans la préparation de ce kit ont été examinés afin de déterminer la présence d'anticorps HIV-1 et 2 et ont obtenu des résultats négatifs par immunoessai enzymatique. Cependant, l'absence de cet anticorps ne peut pas garantir l'absence d'un agent viral responsable du syndrome d'immunodéficience acquis (SIDA).

**10 BIBLIOGRAPHY / LITERATUR / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHY**

1. Abraham G., Manlinos F. and Garza R. : Handbook of radioimmunoassay .  
Abraham G.(eds) Marcel Dekker, Inc. New York. 599, 1977
2. Vermeulen A. : Androgen secretion by adrenals and gonads . in : Malesh V, Greenblatt RB, editors. Hirsutism and virilism . Boston : John Wright - PSG inc., 17 , 1983
3. Green PJ. : Free testosterone determination by ultrafiltration and comparison with dialysis .  
Clinical Chemistry , 28 , 1237 , 1982
4. Haning RV. : Testosterone free index correlates best with dehydroepiandrosterone sulfate  
Fertility and Sterility , 36 , 757 , 1981
5. Biffignandi P., Massucchetti C., Molinatti GM. : Female hirsutism : pathophysiological consideration and therapeutic implications. Endocrine reviews , 5 , 498 , 1984.
6. Manni A., Partridge WM., Cefalu W., Nisula BC. Bardin CW., Santner SJ., Santen RJ. :  
J. Clin. Endocrinol. Metab. 61 , 705 , 1985.
7. Ekins RP : Free hormones in blood : concept and measurement.  
J. Clin. Immunoassay 7 , 163 , 1984.
8. Nieschlag E. and Wickings EJ. : Role of testosterone in evaluation of testicular function. Radioassay systems in  
Clinical endocrinology , G. Abraham , ed. New York , 169 , 1981

**SYMBOLS USED**

Symbol	English	Deutsch	Italiano	Español	Français
	European Conformity	CE-Konformitäts-kennzeichnung	Conformità europea	Conformidad europea	Conformité normes européennes
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consultare le istruzioni per l'uso	Consulte las instrucciones de uso	Consulter les instructions d'utilisation
	In vitro diagnostic medical device	In-vitro-Diagnostikum	Dispositivo medico-diagnóstico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico In vitro	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Catalogue number	Katalognummer	Numero di Catalogo	Número de catálogo	Référence de catalogue
	Batch code	Chargenbezeichnung	Codice del lotto	Código de lote	Numéro de lot
	Contains sufficient for <n> tests	Ausreichend für <n> Prüfungen	Contenuto sufficiente per "n" saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenu suffisant pour "n" tests
	Temperature limit	Temperaturgrenzwerte	Temperatura di conservazione	Temperatura de conservación	Température de conservation
	Use-by date	Verwendbar bis	Utilizzare prima del	Estable hasta	Utiliser jusque
	Manufacturer	Hersteller	Fabbricante	Fabricante	Fabricant
	Distributor *	Vertriebspartner *	Distributore	Distribuidor	Distributeur
	Date of manufacture	Herstellungsdatum	Data di produzione	Fecha de fabricación	Date de production
	Biological risks	Biologische Risiken	Rischi biologici	Riesgos biológicos	Risques biologiques
	Caution	Achtung	Attenzione	Precaución	Attention
	Unique device Identifier	eindeutige Produktidentifizierung			
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Solo a scopo di ricerca	Sólo para uso en investigación	Seulement dans le cadre de recherches
<i>Content</i>	Content	Inhalt	Contenuto	Contenido	Contenu
<i>Volume/No.</i>	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Quantità	Volumen/Número	Volume/Quantité