

## Instrucciones de Uso

# Free Testosterone ELISA

Immunoensayo enzimático para la determinación cuantitativa de Testosterona Libre en suero humano.

**REF** **DB52181**

 **96**

   **2°C** **8°C**

EU: **IVD**  



**IBL International GmbH**  
Flughafenstrasse 52a  
22335 Hamburg, Germany

**Always there for you**



**HISTORIAL DE REVISIÓN DE LA INSTRUCCIONES DE USO****Cambios desde la versión anterior 2020-05 a la versión actual 2021-12**

Portada	Cambio de disposición
Capítulo 4	Información adicional
Capítulo 17	Corrección
Página de símbolos	Cambio de disposición

## 1. USO PREVISTO

Immunoensayo enzimático para la determinación cuantitativa de Testosterona Libre en suero humano.

## 2. IMPLICACIONES CLÍNICAS

La testosterona, un esteroide C19, es la hormona natural más efectiva de la familia de los andrógenos. En los hombres, se produce principalmente en las células de Leydig de los testículos, y sólo una pequeña cantidad se produce en la corteza suprarrenal. Por lo general, los hombres adultos tienen concentraciones de testosterona en plasma entre 10 y 20 veces más altas que las mujeres. La testosterona circula en la sangre unida a tres proteínas: globulina de unión a la hormona sexual (60-80%), albúmina y globulina de unión al cortisol. Sólo alrededor del 1-2% del total de la testosterona circulante permanece sin ligar o libre y por lo tanto biológicamente activa<sup>[1-4]</sup>. La testosterona es responsable del desarrollo de las características sexuales masculinas secundarias y sus mediciones son útiles para evaluar los estados hipogonadales. Tiene una variedad de acciones en el cuerpo. En ambos sexos, estimula el crecimiento secundario del vello sexual, altera la concentración de varias enzimas del riñón, estimula la eritropoyesis y aumenta la libido, la competitividad y la agresión. En los hombres, es responsable del cambio de voz en la pubertad y promueve el crecimiento y desarrollo de las glándulas y órganos sexuales<sup>[3]</sup>.

La testosterona en el hombre tiene una retroalimentación negativa en el hipotálamo y la pituitaria. Por lo tanto, en los hombres, los altos niveles de testosterona están asociados a las enfermedades de la unidad hipotalámica pituitaria<sup>[3]</sup>.

Aunque todavía se está investigando, la mayoría de los investigadores aceptan la determinación de la testosterona libre como una medida de la fracción biológicamente activa. Las determinaciones de testosterona libre se recomiendan para superar las influencias causadas por las variaciones de las proteínas de transporte en la concentración total de testosterona<sup>[5]</sup>. La testosterona, junto con los niveles de cortisol, representa un parámetro útil en la investigación del estrés y la medicina deportiva<sup>[2]</sup>.

## 3. PRINCIPIO DEL ENSAYO

El inmunoensayo enzimático sobre fase sólida (ELISA) está basado en el principio de la competencia. Una cantidad desconocida de antígeno presente en la muestra y una cantidad fija de antígeno marcado enzimáticamente compiten por los sitios de unión de los anticuerpos que recubren los pozos. Tras la reacción del sustrato los pozos se lavan para detener la reacción de competencia. Después de la reacción del sustrato la intensidad del color desarrollado es inversamente proporcional a la cantidad de antígeno de la muestra. Los resultados de las muestras se pueden determinar directamente usando la curva estándar.

#### 4. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Sólo para uso en *diagnóstico in-vitro*. Sólo para uso profesional.
2. Antes de comenzar el ensayo lea las instrucciones completa y cuidadosamente. Use la versión válida del prospecto que se ofrece con el juego de reactivos. Asegúrese de entenderlo todo.
3. En caso de daño severo del estuche del juego de reactivos, contacte por favor a IBL o a su suministrador en forma escrita antes de transcurrida una semana de la recepción. No utilice los componentes dañados en los ensayos pero guárdelos en forma segura para la reclamación.
4. El vidrio roto puede causar lesiones. Maneje los recipientes de cristal con precaución.
5. Tome en cuenta el número de lote y la fecha de caducidad. No mezcle reactivos de diferentes lotes. No use reactivos vencidos.
6. Cumpla con las buenas prácticas de laboratorio y las pautas de seguridad. Use bata de laboratorio, guantes de látex desechables y gafas de protección cuando sea necesario.
7. Los reactivos de este juego que contienen materiales peligrosos pueden causar irritación ocular y cutánea. Vea MATERIAL SUMINISTRADO y las etiquetas para los detalles. Las Hojas de Datos de Seguridad de los materiales para este producto están disponibles en la página de internet de IBL o mediante solicitud directa a IBL.
8. Los reactivos químicos y los reactivos preparados, usados, no usados o expirados deben ser tratados como desechos peligrosos de acuerdo con las regulaciones nacionales sobre bioseguridad y pautas de seguridad.
9. El personal de limpieza debe ser capacitado por profesionales para el manejo de residuos peligrosos.
10. Todos los incidentes graves relacionados con este producto serán notificados al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que esté establecido el usuario y/o el paciente.
11. Algunos reactivos contienen azida de sodio ( $\text{NaN}_3$ ) como preservativo. En caso de contacto con los ojos o la piel, lávese inmediatamente con agua. La  $\text{NaN}_3$  puede reaccionar con el plomo o el cobre de las cañerías formando azidas metálicas explosivas. Cuando elimine los reactivos y para evitar acumulaciones, lave con gran cantidad de agua.
12. El producto contiene material de origen animal, certificado como aparentemente libre de enfermedades infecciosas o contagiosas y parásitos dañinos. En cualquier caso, el material debe ser manipulado con extrema precaución.
13. Todos los reactivos de este juego que contienen suero o plasma humano han sido ensayados y encontrados negativos para anti-HIV I/II, HBsAg and anti-HCV. Sin embargo, la presencia de estos u otros agentes infecciosos no puede ser excluida en forma absoluta, por lo que estos reactivos deben ser tratados como peligros biológicos potenciales a los efectos de su manipulación y eliminación.

#### 5. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El juego de reactivos es enviado a temperatura ambiente y debe ser almacenado a 2-8°C. Manteniéndose alejado del calor o de la luz solar directa. El almacenamiento y estabilidad de muestras y reactivos preparados se detalla en los capítulos correspondientes.

La placa de microtitulación es estable hasta la fecha de caducidad del juego de reactivos aun cuando la bolsa haya sido abierta, siempre que se vuelva a cerrar herméticamente y se almacene a 2-8°C.

#### 6. TOMA Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

##### Suero

Se deben observar las precauciones usuales para la venipuntura. Es importante preservar la integridad química de la muestra de sangre desde el momento de su toma hasta el ensayo. No emplee muestras fuertemente hemolizadas, lipémicas o ictéricas. Es posible utilizar  $\text{NaN}_3$ , ProClin 300 o timerosal como conservante. Las muestras que presenten turbidez deben centrifugarse antes del ensayo para eliminar cualquier material particulado.

- Almacenamiento: -20°C (Alícuotas) / Estabilidad: ≤ 6 meses
- Almacenamiento: 2-8°C / Estabilidad: 48 horas

Manténgase alejado del calor o de la luz solar directa.

Evite congelar y descongelar repetidamente.

Para su embarque las muestras deben congelarse.

Las muestras congeladas deberían alcanzar la temperatura ambiente lentamente y deberían ser mezcladas antes de pipetearlas.

No descongele las muestras en un baño María a 37°C.

**7. MATERIALES SUMINISTRADOS**

Cantidad	Símbolo	Componente
1 x 12x8	<b>MTP</b>	<b>Placa de Microtitulación</b> Tiras separables. Recubierto con anticuerpo de ratón anti-testosterona (monoclonal).
1 x 15 mL	<b>ENZCONJ</b>	<b>Conjugado Enzimático</b> Listo para usar. Contenido: Testosterona conjugado con HRP y estabilizadores.
1 x 6 x 1.0 mL	<b>CAL A-F</b>	<b>Estándar A-F</b> 0; 0.25; 2.5; 10; 25; 100 pg/mL Listo para usar. Contenido: Testosterona, Suero humano, < 0,1 % ProClin300 y estabilizadores.
1 x 2 x 1.0 mL	<b>CONTROL 1+2</b>	<b>Control 1+2</b> Listo para usar. Contenido: Testosterona, Suero humano, < 0,1 % ProClin300 y estabilizadores.
1 x 15 mL	<b>TMB SUBS</b>	<b>Solución de Substrato TMB</b> Listo para usar. Contenido: TMB, Solución buffer y estabilizadores.
1 x 15 mL	<b>TMB STOP</b>	<b>Solución de Parada TMB</b> Listo para usar. 1 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .
1 x 100 mL	<b>WASHBUF</b> <b>CONC</b>	<b>Solución Buffer de Lavado Concentrado (10x)</b> Contenido: Solución buffer fosfatada, Tween20

**8. MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS**

1. Micropipetas (Multipette Eppendorf o dispositivos similares, < 3 % CV). Volúmenes: 25; 50; 100; 150 y 250 µL
2. Vortex
3. Micropipeta multicanal de 8 canales con reservorio de reactivo
4. Frasco lavador, sistema automatizado o semi-automatizado de lavado de placas de microtitulación
5. Incubadora, 37°C
6. Fotómetro para placas de microtitulación capaz de leer absorbancias a 450 nm (longitud de onda de referencia 600-650 nm)
7. Agua bidestilada o desionizada
8. Toallas de papel, puntas para las micropipetas y cronómetro

**9. INDICACIONES PARA EL PROCEDIMIENTO**

1. Cualquier manipulación inadecuada de las muestras o modificación del procedimiento de ensayo puede alterar los resultados. Los volúmenes a pipetear, los tiempos de incubación, las temperaturas y etapas de pretratamientos tienen que ser efectuados estrictamente siguiendo las instrucciones. Use sólo pipetas u otros dispositivos calibrados.
2. Una vez comenzado el ensayo, se deben completar todas las etapas sin interrupción. Asegúrese de que los reactivos, materiales y dispositivos necesarios estén listos en el momento adecuado. Permita que todos los reactivos y muestras alcancen la temperatura ambiente (18 - 25°C) y agite suavemente por rotación cada vial de reactivo líquido o muestra antes del uso. Evite la formación de espuma.
3. Evite la contaminación de los reactivos, pipetas pocillos y/o tubos. Emplee una punta desechable nueva para cada reactivo, estándar o muestra. No intercambie las tapas. Tape siempre los viales que no estén en uso. No reutilice los pocillos, tubos o reactivos.
4. Se recomienda ensayar por duplicado para poder identificar errores potenciales de pipeteo.
5. Use un esquema de pipeteo apropiado según las dimensiones de la placa.
6. El tiempo de incubación afecta los resultados. Todos los pocillos deben ser manipulados en el mismo orden y secuencia de tiempo. Para el pipeteo de soluciones en los pocillos se recomienda una pipeta de 8 canales.
7. El lavado de la placa de microtitulación es un paso importante. Los pocillos insuficientemente lavados conllevan a resultados erróneos. Se recomienda emplear una pipeta multicanal o un sistema automático de lavado. No deje secar los pocillos entre incubaciones. Cuide de no dañar el recubrimiento de las placas durante el enjuague y/o la aspiración. Enjuague y agregue los reactivos cuidadosamente. Al enjuagar cerciórese que todos los pocillos estén completamente llenos con la Solución Buffer de Lavado y que no haya residuos en ellos.

8. La humedad afecta los pocillos y tubos recubiertos. No abra la bolsa hasta que alcance la temperatura ambiente. Los pocillos o tubos que no se empleen deben guardarse inmediatamente en la bolsa resellada con desecante.

## 10. INSTRUCCIONES PARA LA PREPARACIÓN DEL ENSAYO

El contenido de los 96 determinaciones del kit, puede ser dividido en 3 ensayos separados. Los volúmenes indicados a continuación corresponden a un ensayo de todas tiras (96 determinaciones).

### 10.1. Preparación de componentes concentrados

Diluya / disuelva	Componente	con	Diluyente	Relación	Notas	Almacenamiento	Estabilidad
100 mL	<b>WASHBUF</b>	900 mL	agua bidest.	1:10	Mezcle vigorosamente.	2-8°C	8 semanas

### 10.2. Dilución de Muestras

Pretratamiento de la muestra: ninguna.

**Las muestras superior a 100 pg/mL no se debe diluir.** Dilución puede alterar el equilibrio entre la testosterona libre y las proteínas del suero.

## 11. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

1.	Pipetee <b>25 µL</b> de cada <b>Estándar, Control</b> y <b>muestra</b> en los pozos respectivos de la placa de microtitulación.
2.	Pipetee <b>100 µL</b> de <b>Conjugado de Enzima</b> en cada pozo.
3.	<b>Mezcle bien para 10 segundos.</b>
4.	<b>Incube 1 hora a 37°C. No Cubra la placa.</b>
5.	Lave la placa <b>3x</b> con <b>250 µL</b> de <b>Solución Buffer de Lavado</b> . Remueva totalmente el exceso de la solución, golpeando cuidadosamente la placa invertida sobre una toalla de papel.
6.	Pipetee <b>100 µL</b> de <b>Solución de Substrato TMB</b> en cada pocillo.
7.	<b>Incube 15 minutos a 18-25°C</b> (temperatura ambiente).
8.	Detenga la reacción del sustrato, añadiendo <b>100 µL de Solución de Parada TMB</b> en cada pocillo. Agite brevemente. El color cambia de azul a amarillo.
9.	<b>Mida</b> la densidad óptica con un fotómetro <b>405 nm</b> (Longitud de onda de referencia: 600-650 nm) antes de <b>15 minutos</b> después de añadir la Solución de Parada.

## 12. AUTOMATIZACIÓN

Se pueden proporcionar protocolos automatizados para los sistemas ELISA abiertos, p.e.: DSX ELISA Processor, BEP2000 ELISA Processor o EVOlyzer.

Para obtener más información, póngase en contacto con: [ProductSupport.IBL@tecan.com](mailto:ProductSupport.IBL@tecan.com)

Para el uso de productos en instrumentos automatizados es absolutamente necesario realizar y mantener una validación de acuerdo con los requisitos legales. Una validación exitosa del proceso es un prerrequisito para el uso con fines de diagnóstico. La responsabilidad de la implementación y documentación de la validación de acuerdo con los requisitos específicos de cada país recae en la organización o institución.

## 13. CONTROL DE CALIDAD

Los resultados son válidos solamente si el ensayo ha sido realizado de acuerdo con las instrucciones. Además el usuario debe atenerse a las Prácticas de Buen Laboratorio (GLP) u otras normas o leyes comparables. Para la determinación del diagnóstico, el usuario y/o el laboratorio deben de tener un sistema validado de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP). Los valores de los controles del ensayo deben encontrarse dentro de los rangos de aceptación indicados en las etiquetas y el Certificado QC. Si este criterio no se cumple, el ensayo no es válido y debe repetirse. Cada laboratorio debe emplear muestras conocidas como controles adicionales.

En caso de detectarse alguna desviación, se debe verificar lo siguiente: Fecha de vencimiento de los reactivos, condiciones de almacenamiento, pipetas, dispositivos, condiciones de incubación y método de lavado.

Se recomienda participar en los programas de aseguramiento de la calidad adecuados.

## 14. CÁLCULO DE RESULTADOS

La DO de los estándares (eje-y, lineal) se plotean contra su concentración (eje-x, logarítmico) ya sea en papel semi-logarítmico o empleando un método automático. Se logra un buen ajuste con cubic spline, 4 Parameter Logistics or Logit-Log.

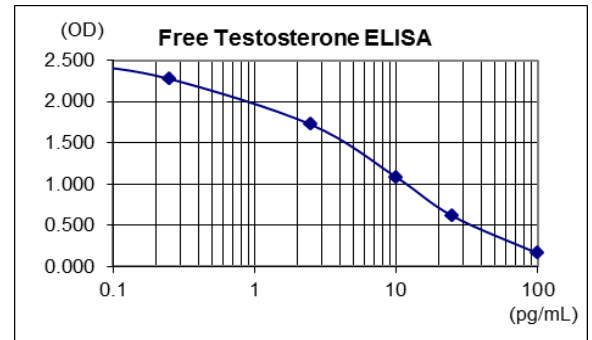
Para el cálculo de la curva estándar, Aplique cada señal de los estándares (los duplicados con un valor obviamente fuera de límites debe omitirse y emplearse el valor único más plausible).

La concentración de las muestras se puede leer directamente de la curva estándar.

### Curva de Calibración Típica

(Ejemplo. ¡No usar para el cálculo!)

Estándar	Testosterona (pg/mL)	DO <sub>Medio</sub>	DO/DO <sub>max</sub> (%)
A	0.0	2.477	100
B	0.25	2.276	92
C	2.5	1.722	70
D	10	1.086	44
E	25	0.615	25
F	100	0.162	7



Rango de medición: 0.52 pg/mL (LdC) a 100 pg/mL (Estándar F).

## 15. VALORES ESPERADOS

Los resultados por sí solos no deben ser la única razón para un tratamiento terapéutico, sino que deben correlacionarse con observaciones clínicas y ensayos de diagnóstico.

Los sujetos aparentemente sanos presentan los siguientes valores:

### Mujeres

Edad	n (179)	Mediana [pg/mL]	5.-95. percentil [pg/mL]	Intervalo absoluta [pg/mL]
<10	30	0.82	0.36 - 1.7	0.28 - 1.89
10-14	30	1.52	0.73 - 2.3	0.56 - 2.58
15-19	30	1.88	0.99 - 4.3	0.83 - 5.80
20-39	30	1.68	0.84 - 3.4	0.79 - 3.98
40-60	34	1.41	0.82 - 2.3	0.59 - 3.12
>60	25	1.05	0.66 - 2.1	0.27 - 2.33

### Hombres

Edad	n (179)	Mediana [pg/mL]	5.-95. percentil [pg/mL]	Intervalo absoluta [pg/mL]
<10	30	0.59	0.31 - 1.3	0.16 - 1.7
10-14	30	1.62	0.82 - 15.4	0.67 - 18.0
15-19	27	16.8	8.3 - 21.6	2.3 - 23.3
20-39	32	14.6	7.0 - 22.7	2.9 - 28.1
40-60	32	10.8	6.3 - 17.8	5.8 - 21.0
>60	28	10.7	2.5 - 17.8	1.1 - 17.9

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores normales.

## 16. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

La toma de la muestra y almacenamiento tiene un efecto importante en los resultados. Vea TOMA DE MUESTRA Y ALMACENAMIENTO para mayores detalles.

Para reactividad cruzada, vea PRUEBAS FUNCIONALES.

Los siguientes componentes sanguíneos no tienen un efecto significativo (+/- 20% del esperado) en los resultados del ensayo en las concentraciones indicadas a continuación.

Hemoglobina	5.0 mg/mL	ASB	0.5%
Bilirrubina	5.0 mg/mL	NaN <sub>3</sub>	0.1 %
Triglicéridos	22.8 mg/mL	ProClin 300	0.1 %
		Timerosal	0.01 %

### EFECTO DE GLOBULINA TRANSPORTADORA DE HORMONAS SEXUALES (SHBG)

El propósito de este estudio fue investigar una posible interferencia causada por la unión de la SHBG a la testosterona libre conjugada a la peroxidasa del rábano. Un pool de suero fue enriquecido con cantidades definidas de SHBG en concentraciones que van desde 6 hasta 200 µg/mL y analizado en este ELISA.

SHBG añadida (µg/mL)	OD 450 nm	B/B <sub>0</sub> (%)
0	2.08	100
6.25	2.07	99.7
12.5	2.13	103
50	2.07	97.4
200	2.06	99.5

Los resultados mostraron valores unidos entre 97-103% de B/B<sub>0</sub> (B<sub>0</sub> = suero nativo), incluso a niveles de SHBG mayores de los normales (0.5-5 mg/mL). En conclusión, los resultados mostraron que no hubo influencias significativas por parte de la SHBG en el juego de reactivos de testosterona libre ELISA.

### EFECTO DE LA ALBUMINA SÉRICA HUMANA (HSA)

El propósito de este estudio fue investigar una posible interferencia de la albúmina sérica humana (HSA) en el procedimiento de ensayo. Se añadió HSA a tres muestras de pacientes con concentraciones de 1.25, 2.5 y 5.0 g/dL. Todas las muestras fueron analizados con el juego de reactivos testosterona libre ELISA y arrojaron los siguientes resultados (en pg/mL):

Muestra	HSA añadida (g/dL)			
	0	1.25	2.5	5.0
1	24.2	26.5	24.0	20.5
2	1.51	1.68	1.78	2.06
3	8.08	8.09	8.42	7.48

Los resultados demuestran una influencia significativa de la HSA añadida en las tres muestras de suero del paciente.



## 17. PRUEBAS FUNCIONALES

### Límite del Blanco (LdB)

El estudio LdB fue realizado en un día de prueba por un operador. Las ejecuciones se realizaron con los controles del kit alto y bajo y con el calibrador cero (Estándar A). El calibrador cero se probó 22 veces usando un lote de reactivo. Límite de blanco = 0.10 pg / mL.

### Límite de Cuantificación (LdC)

El estudio LdC fue realizado durante un día de prueba por un operador. Las ejecuciones se realizaron con los controles de kit alto y bajo y cinco muestras diferentes de suero humana con concentraciones de baja a media. Cada muestra se probó diez veces utilizando un lote de reactivos. Límite de cuantificación = 0,52 pg / mL. (con una precisión inferior al 20%).

### Trazabilidad metrológica

El ensayo Free Testosterone ELISA es trazable metrológicamente a unidades SI pg/ml utilizando un procedimiento de medición de referencia con un Radioinmunoensayo (RIA) de testosterona libre disponible comercialmente según EN ISO 17511.

Los valores asignados a los Estándares y Controles son trazables al método de referencia con una incertidumbre media del 11.6%.

La conmutación del material de referencia de IBL para muestras de suero está respaldada por la buena correlación entre el procedimiento de referencia elegido Radioinmunoensayo (RIA) y el Free Testosterone ELISA de IBL.

Tabla: análisis de Passing-Bablok y coeficiente de Pearson

Free Testosterone ELISA = 1.019 X RIA + 0.2489	n = 85	Y = m x X + b	r = 0.97
--	--------	---------------	----------

### Comparación de Métodos

La testosterona libre en 85 muestras de suero recolectadas de individuos aparentemente sanos se evaluó mediante el método de comparación y el ELISA de IBL. Todas las muestras fueron tomadas y almacenadas a -20°C. Los resultados obtenidos se utilizaron para determinar la correlación entre el ELISA de IBL y el RIA disponible comercialmente.

Tabla: Resumen del método de comparación / análisis de regresión

y	x	n	r <sup>2</sup>	r	y = bx + a
DB52181	Ensayo Comercial RIA	85	0.944	0.972	y = 0.9986x + 0.7037

**Especificidad Analítica (Reactividad Cruzada)**

El estudio de reactividad cruzada se realizó con controles del kit alto y bajo. El estándar A fue enriquecido con sustancias potencialmente interferente en diferentes concentraciones. Cada concentración se probó por duplicado usando un lote de reactivo.

Substancia		Reactividad Cruzada (%)
Testosterona	(4-Androsten-17 $\beta$ -ol-3-one)	100
11 $\beta$ -Hydroxytestosterone	(4-Androsten-11 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol-3-one)	8.67
11 $\alpha$ -Hydroxytestosterone	(4-Androsten-11 $\alpha$ -,17 $\beta$ -diol-3-one)	3.24
Dihydrotestosterona	(5 $\alpha$ -Androstan-17 $\beta$ -ol-3-one)	1.92
Androstenediona	(4-Androstene-3,17-dione)	0.83
Metiltestosterona	(4-Androsten-17 $\alpha$ -methyl-17 $\beta$ -ol-3-one)	0.44
DHEA-S	(5-Androsten-3 $\beta$ -ol-17-one sulfate)	0.07
Testosterone Sulfate	(4-Androsten-17 $\beta$ -ol-3-one sulfate)	0.04
Progesterona	(4-Pregnen-3,20-dion)	0.03
Sulfato androsterona	(5 $\alpha$ -Androsten-3 $\alpha$ -ol-17-one sulfate)	0.02
Androsterona	(5 $\alpha$ -Androstan-3 $\alpha$ -ol-17one)	0.01
Dehydroisoandrosterone	(5-Androsten-3 $\beta$ -ol-17-one)	0.01
Pregnenolona	(5-Pregnen-3 $\beta$ -ol-20-one)	< 0.01
Norgestrel	(4-Estren-17 $\alpha$ -Ethyanyl-18-homo-17 $\beta$ -ol-3-one(+/-))	< 0.01
Deoxycorticosterona	(4-Pregnen-21-ol-3,20-dione)	< 0.01
Dexamethasone	(9 $\alpha$ -Fluor-16 $\alpha$ -methyl-prednisolone)	< 0.01
Cortisona	(4-Pregnen-17 $\alpha$ ,21-diol-3,11,20-trion)	< 0.01
Ethynylestradiol	(1,3,5(10)-Estratrien-17 $\alpha$ -Ethyanyl-3,17 $\beta$ -diol)	< 0.01
Norethindrone	(4-Estren-17 $\alpha$ -Ethyanyl-17 $\beta$ -ol-3-one)	< 0.01
Estrona	(1,3,5(10)-Estratrien-3-ol-17-one)	< 0.01
Corticosterona	(4-Pregnen-11 $\beta$ ,21-diol-3,20-dione)	< 0.01
17 $\alpha$ -Hydroxypregnenolene	(5-Pregnen-3 $\beta$ ,17 $\alpha$ -diol-20-one)	< 0.01
17 $\alpha$ -Hidroxiprogesterona	(4-Pregnen-17 $\alpha$ ol-3,20-dione)	< 0.01
Cortisol, Hydrocortisone	(4-Pregnen-11 $\beta$ ,17,21-triol-3,20-dione)	< 0.01
Epiestradiol	(1,3,5(10)-Estratrien-3,17 $\alpha$ -diol)	< 0.01
Prednisolona	(1,4-Pregnadien-11 $\beta$ ,17 $\alpha$ ,21-triol-3,20-dione)	< 0.01
11-Deoxycortisol	(4-Pregnen-17 $\alpha$ ,21-diol-3,20-dione)	< 0.01
Cholesteryl Sulfate	(5-Cholesten-3 $\beta$ -ol sulfate)	< 0.01
6 $\alpha$ -Methyl-17 $\alpha$ -Hidroxiprogesterona-acetate	(6 $\alpha$ -methyl-4-pregnen-3,20-dion,17acetate)	< 0.01
Estriol	(1,3,5(10)-Estratrien-3,16 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol)	< 0.01
17 $\beta$ -Estradiol-17 Sulfato	(1,3,5(10)-Estratrien-3,17 $\beta$ -diol 17-sulfate)	< 0.01
Prednisona	(1,4-Pregnadien-17 $\alpha$ ,21-diol-3,11,20-trion)	< 0.01
6 $\alpha$ -Methyl-17 $\alpha$ -Hidroxiprogesterona	(6 $\alpha$ -methyl-4-pregnen-17 $\alpha$ -ol-3-20-dione)	< 0.01
17 $\alpha$ -Hidroxiprogesterona-17 Sulfato	(4-Pregnen-17 $\alpha$ -ol-3,20-dione sulfate)	< 0.01

### Linealidad

La linealidad de la Free Testosterone ELISA no se puede determinar porque no se dispone de un método de referencia independiente para la determinación de Testosterona libre. Como el equilibrio de testosterona libre a total depende tanto de la concentración de testosterona como de la concentración de proteínas de unión, no se puede calcular la recuperación.

### Recuperación

La recuperación de la Free Testosterone ELISA no se puede determinar porque no se dispone de un método de referencia independiente para la determinación de Testosterona libre. Como el equilibrio de testosterona libre a total depende tanto de la concentración de testosterona como de la concentración de proteínas de unión, no se puede calcular la recuperación.

### Precisión

El estudio **Intra-Assay** se realizó durante un día utilizando un lote de reactivos. Las pruebas se realizaron con controles de kit alto y bajo y con un panel de tres muestras de suero. Cada muestra fue analizada 20 veces.

Tabla: Resumen de la variación intraensayo de tres muestras de suero diferentes.

Muestra No	n	Medio $\pm$ DS (pg/mL)	CV (%)
1	20	1.7 $\pm$ 0.2	12.8
2	20	5.0 $\pm$ 0.3	6.7
3	20	25.5 $\pm$ 1.1	4.4

La precisión del ensayo interno mostró un CV medio de 7.8% y un rango de 4.4 – 12.8% para las tres muestras de suero diferentes.

El estudio **Inter-Assay** se llevó a cabo utilizando un lote de reactivos. Se realizaron 11 ensayos con controles de kit altos y bajos y con un panel de tres muestras de suero. Cada muestra se analizó por duplicado.

Tabla: Resumen de la variación entre ensayos de tres muestras de suero diferentes

Muestra No	n	Medio $\pm$ DS (pg/mL)	CV (%)
1	11	0.92 $\pm$ 0.1	7.5
2	11	2.10 $\pm$ 0.2	7.4
3	11	15.11 $\pm$ 1.3	8.8

La precisión del Interensayo mostró un CV medio de 7.9% y un rango de 7.4 – 8.8% para las tres muestras de suero diferentes.

El estudio **Inter-Lot** se llevó a cabo utilizando tres lotes de reactivos. Se realizaron 12 ensayos con un panel de tres muestras de suero. Cada muestra fue probada por duplicado.

Tabla: Resumen de la variación entre los lotes de tres muestras de suero diferentes








Muestra No	n	Medio $\pm$ DS (pg/mL)	CV (%)
1	12	1.01 $\pm$ 0.2	22.4
2	12	2.11 $\pm$ 0.2	8.2
3	12	14.9 $\pm$ 0.6	3.7

La variación entre lotes mostró un CV medio del 11.4% y un rango de 3.7 – 22.4% para las tres muestras de suero diferentes.

## 18. REFERENCIAS SOBRE EL PRODUCTO

- [1] Vermeulen, A. "A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum." *J Clin Endocrinol Metab* 86 (2001): 2903.
- [2] Zitzmann and Nieschlag, "Testosterone levels in healthy men, and the relation to behavioral and physical characteristics: fact and constructs." *European Journal of Endocrinology*, 2001, Vol. 144, 183-197.
- [3] David Wild. *The Immunoassay Handbook. Theory and Applications of Ligand Binding, ELISA and Related Techniques*. 4th Edition., pp 722, 731-733, 746, 748-749. 2013
- [4] Lothar Thomas. *Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. Band 2. Chapter 34*, pp. 1841-1842. 2012
- [5] Winters, Stephen J., David E. Kelley, and Bret Goodpaster. "The analog free testosterone assay: are the results in men clinically useful?" *Clinical Chemistry* 44.10 (1998): 2178-2182.

# Symbols / Symbole / Symbôles / Símbolos / Símbolos / Σύμβολα

	Cat.-No.: / Kat.-Nr.: / No.- Cat.: / Cat.-No.: / N.º Cat.: / N.–Cat.: / Αριθμός-Κατ.:
	Lot-No.: / Chargen-Bez.: / No. Lot: / Lot-No.: / Lote N.º: / Lotto n.: / Αριθμός -Παραγωγή:
	Use by: / Verwendbar bis: / Utiliser à: / Usado por: / Usar até: / Da utilizzare entro: / Χρησιμοποιείται από:
	No. of Tests: / Kitgröße: / Nb. de Tests: / No. de Determ.: / N.º de Testes: / Quantità dei tests: / Αριθμός εξετάσεων:
	Concentrate / Konzentrat / Concentré / Concentrar / Concentrado / Concentrato / Συμπύκνωμα
	Lyophilized / Lyophilisat / Lyophilisé / Liofilizado / Liofilizado / Liofilizzato / Λυοφιλιασμένο
	In Vitro Diagnostic Medical Device. / In-vitro-Diagnostikum. / Appareil Médical pour Diagnostics In Vitro. / Dispositivo Médico para Diagnóstico In Vitro. / Equipamento Médico de Diagnóstico In Vitro. / Dispositivo Medico Diagnostico In vitro. / Ιατρική συσκευή για In-Vitro Διάγνωση.
	Read instructions before use. / Arbeitsanleitung lesen. / Lire la fiche technique avant emploi. / Lea las instrucciones antes de usar. / Ler as instruções antes de usar. / Leggere le istruzioni prima dell'uso. / Διαβάστε τις οδηγίες πριν την χρήση.
	Keep away from heat or direct sun light. / Vor Hitze und direkter Sonneneinstrahlung schützen. / Garder à l'abri de la chaleur et de toute exposition lumineuse. / Manténgase alejado del calor o la luz solar directa. / Manter longe do calor ou luz solar directa. / Non esporre ai raggi solari. / Να φυλάσσεται μακριά από θερμότητα και άμεση επαφή με το φως του ηλίου.
	Store at: / Lagern bei: / Stocker à: / Almacene a: / Armazenar a: / Conservare a: / Αποθήκευση στους:
	Store at: 2-8°C / Lagern bei: 2-8°C / Stocker à: 2-8°C / Almacene a: 2-8°C / Armazenar a: 2-8°C / Conservare a: 2-8°C / Αποθήκευση στους: 2-8°C
	Manufacturer: / Hersteller: / Fabricant: / Productor: / Fabricante: / Fabbicante: / Παραγωγός:
	Distributor: / Distributor: / Distributeur: / Distributor: / Distribuidor: / Distributore: / Διανομέας:
	Caution! / Vorsicht! / Attention! / ¡Precaución! / Cuidado! / Attenzione! / Προσοχή!
	Symbols of the kit components see MATERIALS SUPPLIED. Die Symbole der Komponenten sind im Kapitel KOMPONENTEN DES KITS beschrieben. Voir MATERIEL FOURNI pour les symbôles des composants du kit. Símbolos de los componentes del juego de reactivos, vea MATERIALES SUMINISTRADOS. Para símbolos dos componentes do kit ver MATERIAIS FORNECIDOS. Per i simboli dei componenti del kit si veda COMPONENTI DEL KIT. Για τα σύμβολα των συστατικών του ΚΙΤ συμβουλευτείτε το ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ.

Generic table, not all symbols are present in the product

**COMPLAINTS:** Complaints may be submitted initially written or vocal. Subsequently they need to be filed including the test performance and results in writing in case of analytical reasons.

**WARRANTY:** The product is warranted to be free from material defects within the specific shelf life and to comply with product specifications delivered with the product. The product must be used according to the Intended use, all instructions given in the instructions for use and within the product specific shelf life. Any modification of the test procedure or exchange or mixing of components of different lots could negatively affect the results. These cases invalidate any claim for replacement.

**LIMITATION OF LIABILITY:** IN ALL CIRCUMSTANCES THE EXTENT OF MANUFACTURER'S LIABILITY IS LIMITED TO THE PURCHASE PRICE OF THE KIT(S) IN QUESTION. IN NO EVENT SHALL MANUFACTURER BE LIABLE FOR ANY INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES, INCLUDING DAMAGES FOR LOST PROFITS, LOST SALES, INJURY TO PERSON OR PROPERTY OR ANY OTHER INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL LOSS.

The labelling of hazardous substances is according to European directive.

For further country-specific classifications, please refer to the corresponding safety data sheet.



**IBL International GmbH**

Flughafenstrasse 52a  
22335 Hamburg, Germany

Phone: +49 (0)40-53 28 91-0  
Fax: +49 (0)40-53 28 91-11

IBL@tecan.com  
www.tecan.com/ibl

**Always there for you**