

IMMULITE®

Androstenedione

**For use on the IMMULITE®
and IMMULITE® 1000 systems**

DPC®

IMMULITE/IMMULITE 1000[®]

Androstenedione

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE and IMMULITE 1000 Analyzers — for the quantitative measurement of Δ^4 -androstenedione in human serum.

Catalog Numbers: **LKA01** (100 tests), **LKA05** (500 tests)

Test Code: **AND** Color: **Brown**

Summary and Explanation

Δ^4 -Androstenedione is a steroid which serves as a major precursor for testosterone and estrone.^{1,2,3} Its clinical interest derives from the fact that it is often elevated in cases of abnormal hair growth (hirsutism) and virilization.^{1,6,8-12}

Unlike the adrenal androgens dehydroepiandrosterone and its sulfate, circulating androstenedione originates both from the adrenals and from the ovaries.^{1,12,13} Plasma levels increase steadily from about the seventh year of life, then gradually decline after the third decade.^{2,4,13} Androstenedione exhibits a diurnal variation, being highest in the morning, and also a cyclical variation during the menstrual cycle, being highest near midcycle.^{1,5,14,15} During pregnancy, there is an increase in the plasma level.^{3,11}

Principle of the Procedure

IMMULITE/IMMULITE 1000 Androstenedione is a solid-phase, competitive chemiluminescent enzyme immunoassay.

Incubation Cycles: 1 × 60 minutes.

Specimen Collection

Neither EDTA nor heparinized plasma is recommended for use.

Lipemic, hemolyzed, icteric or grossly contaminated samples may give erroneous results. The use of an ultracentrifuge is recommended to clear lipemic samples.

Centrifuging serum samples before a complete clot forms may result in the presence of fibrin. To prevent erroneous results due to the presence of fibrin, ensure that complete clot formation has taken place prior to centrifugation of samples. Some samples, particularly those from patients receiving anticoagulant therapy, may require increased clotting time.

Blood collection tubes from different manufacturers may yield differing values, depending on tube materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants. IMMULITE/IMMULITE 1000 Androstenedione has not been tested with all possible variations of tube types. Consult the section on Alternate Sample Types for details on tubes that have been tested.

Volume Required: 25 μ L serum. (Sample cup must contain at least 100 μ L more than the total volume required.)

Storage: 24 hours at 2–8°C or 2 months (aliquotted) at –20°C.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.

Reagents: Store at 2–8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

Follow universal precautions, and handle all components as if capable of transmitting infectious agents. Source materials derived from human blood were tested and found nonreactive for syphilis; for antibodies to HIV 1 and 2; for hepatitis B surface antigen; and for antibodies to hepatitis C.

Chemiluminescent Substrate: Avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

Water: Use distilled or deionized water.

Materials Supplied

Components are a matched set. The barcode labels are needed for the assay.

Androstenedione Test Units (LAO1)

Each barcode-labeled unit contains one bead coated with polyclonal rabbit anti-androstenedione antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.
LKA01: 100 units. **LKA05:** 500 units.

Allow the Test Unit bags to come to room temperature before opening. Open by cutting along the top edge, leaving the ziplock ridge intact. Reseal the bags to protect from moisture.

Androstenedione Reagent Wedge (LAO2)

With barcode. 7.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to androstenedione in buffer. Store capped and refrigerated: stable at 2–8°C until expiration date.

Recommended usage is within 30 days after opening when stored as indicated.
LKA01: 1 wedge. **LKA05:** 5 wedges.

Androstenedione Adjustors (LAOL, LAOH)

Two vials (Low and High), 2 mL each, of androstenedione in a processed human serum matrix. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

LKA01: 1 set. **LKA05:** 2 sets.

Kit Components Supplied Separately

LSUBX: Chemiluminescent Substrate
LPWS2: Probe Wash Module
LKPM: Probe Cleaning Kit
LCHx-y: Sample Cup Holders (barcoded)
LSCP: Sample Cups (disposable)
LSCC: Sample Cup Caps (optional)

CON6: Tri-level, multi-constituent control

Also Required

Sample transfer pipets, distilled or deionized water, controls.

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual.

See the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Visually inspect each Test Unit for the presence of a bead before loading it onto the system.

Recommended Adjustment Interval:
2 weeks.

Quality Control Samples: Use controls or sample pools with at least two levels (low and high) of androstenedione.

Expected Values

A reference range study was performed on serum samples from 48 male and 58 female adult laboratory volunteers using the IMMULITE/IMMULITE 1000 Androstenedione procedure.

Males: Median: 1.8 ng/mL (6.3 nmol/L)
Central 95% range: 0.7 – 3.6 ng/mL (2.4 – 12.6 nmol/L)

Females: Median: 1.9 ng/mL (6.6 nmol/L)
Central 95% range: 0.3 – 3.5 ng/mL (1.0 – 12.2 nmol/L)

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

The growing graafian follicle secretes androstenedione, and a two-fold increase in its production occurs near the midcycle. Specimens drawn during this time may therefore yield androstenedione results which fall above the upper central 95% limit.^{1,2}

Diurnal variation has been observed. For example, in 11 healthy men 18 to 30 years of age, the mean 24-hour androstenedione concentration was 0.93 ng/mL, with a circadian amplitude equaling 42% of the mean. The major acrophase occurred in the morning at 07:10 hours; the major nadir occurred in the evening at 23:00; and there was a secondary acrophase at 16:35. The 95% confidence interval for acrophase/nadir was 68 minutes.¹³ Accordingly, the time of collection should be noted.

It should be remembered that exercise can have a significant impact on circulating androstenedione levels. Thus, in a study of 18 professional soccer players, the mean androstenedione concentration increased from a baseline of approximately 0.9 ng/mL to 1.8 ng/mL at end of game, declining to 0.7 ng/mL ninety minutes afterwards.¹⁴ In another study, the

mean androstenedione level for 20 moderately trained men increased significantly, from a baseline mean of 1.11 ng/mL, to 1.41 ng/mL five minutes after a one-hour swim.¹⁵

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

Performance Data

See Tables and Graphs for data representative of the assay's performance. Results are expressed in ng/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Conversion Factor:

ng/mL \times 3.4916 \rightarrow nmol/L

Calibration Range: 0.3 – 10 ng/mL
(1.04 to 35 nmol/L).

Analytical Sensitivity: 0.3 ng/mL
(1.0 nmol/L).

Precision: Samples were assayed in duplicate over the course of multiple days, for a total of 40 runs and 80 replicates. (See "Precision" table.)

Linearity: Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with 3 androstenedione solutions (10, 40 and 100 ng/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for androstenedione, with an extremely low crossreactivity to other naturally occurring steroids or therapeutic drugs

that may be present in patient samples. (See "Specificity" table.)

Bilirubin: Samples spiked with 100 and 200 mg/L of conjugated and unconjugated bilirubin were analyzed. Bilirubin may interfere with the assay, causing elevations. (See "Bilirubin" table.)

Hemolysis: Samples spiked with 135, 270 and 540 mg/dL of hemoglobin were analyzed. Hemolysis may interfere with the assay, causing elevations. (See "Hemolysis" table.)

Lipemia: May cause a depression of values. (See "Lipemia" table.)

Alternate Sample Type: To assess the effect of alternate sample types, blood was collected from 26 volunteers into plastic plain serum, heparinized, EDTA and Becton Dickinson SST[®] vacutainer tubes. Equal volumes of the matched samples were spiked with various concentrations of androstenedione, to obtain values throughout the calibration range of the assay, and then assayed by the IMMULITE Androstenedione procedure.

(Heparin) = 0.88 (Serum) – 0.15 ng/mL
 $r = 0.981$

(SST) = 1.04 (Serum) – 0.10 ng/mL
 $r = 0.989$

(EDTA) = All samples were >10 ng/mL.

Means:

3.83 ng/mL (Serum Plastic)
3.20 ng/mL (Heparin Plastic)
3.87 ng/mL (SST Plastic)
>10 ng/mL (EDTA Plastic)

Neither EDTA nor heparinized plasma are recommended for use.

Method Comparison 1: The assay was compared to a commercially available solid phase radioimmunoassay for androstenedione (Kit A) on 78 endogenous patient samples. (Concentration range: approximately 0.5 to 6 ng/mL. See graph 1.) By linear regression:

(IML) = 1.17 (Kit A) – 0.37 ng/mL
 $r = 0.924$

Means:

1.83 ng/mL (IMMULITE)
1.88 ng/mL (Kit A)

Method Comparison 2: The assay was also compared to DPC's IMMULITE 2000 Androstenedione on 334 endogenous and

spiked samples. (Concentration range: approximately 0.3 to 9.5 ng/mL. See graph 2.) By linear regression:

$$(IML) = 1.04 (IML\ 2000) + 0.09\ ng/mL$$

$$r = 0.992$$

Means:

2.69 ng/mL (IMMULITE)
2.49 ng/mL (IMMULITE 2000)

Method Comparison 3: A total of 95 patient samples were tested by the IMMULITE/IMMULITE 1000 Androstenedione assay on the two systems. (Concentration range: approximately 0.4 to 10 ng/mL. See "Method Comparison 3" graph). By linear regression:

$$(IML\ 1000) = 0.99 (IML) + 0.04\ ng/mL$$

$$r = 0.991$$

Means:

3.53 ng/mL (IMMULITE 1000)
3.52 ng/mL (IMMULITE)

References

- 1) Abraham GE. Ovarian and adrenal contribution to peripheral androgens during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1974;39:340.
- 2) Baird DT. Ovarian steroid secretion and metabolism in women. In: James VHT, Serio M, Giusti G, editors. *The Endocrine Function of the Human Ovary*. New York: Academic Press, 1976: 125-33.
- 3) Fietz J et al. Simultaneous radioimmunoassay of androstenedione, dehydroepiandrosterone and 11 β -hydroxyandrostenedione in plasma. *Horm Res* 1980;13: 133-49.
- 4) Hummer L et al. An easy and reliable radioimmunoassay of serum androstenedione: age-related normal values in 252 females aged 2 to 70 years. *Scand J Clin Lab Invest* 1983;43:301-6.
- 5) Judd HL, Yen SSC. Serum androstenedione and testosterone levels during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1973;39:475.
- 6) Keenan BS et al. Plasma androgens in congenital adrenal hyperplasia; androstenedione concentration as an index of adrenal androgen suppression. *J Lab Clin Med* 1979;94:799-808.
- 7) Putz Z. A selective radioimmunoassay of androstenedione in plasma and saliva. *J Clin Chem Clin Biochem* 1982;20:761-4.
- 8) Raj S et al. Diagnostic value of androgen measurements in polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol* 1978;52:169-71.
- 9) Redi B et al. Diagnostic strategy in hyperandrogenic syndrome. *Horm Res* 1983;18:117-24.
- 10) Sciarra F. Diagnosis of virilizing syndromes: endocrinological parameters. In: Milinatti G et al, editors. *Androgenization in Women*. New York: Raven Press 1983;85-115.
- 11) Tourniaire J, Pugeat M. Strategic approach of hyperandrogenism in women. *Horm Res* 1983;18:125-34.
- 12) Vermeulen A. Androgen secretion by adrenals

and gonads. In: Mahesh V, Greenblatt RB, editors. *Hirsutism and Virilism*. Boston: John Wright PSG 1983;17-34.
- 13) Lejeune-Lenain C, Van Cauter E, Desir D, et al. Control of circadian and episodic variations of adrenal androgens secretion in man. *J Endocrinol Invest* 1987;10:267-76.
- 14) Lupo C, Baldi L, Bonifazi M, et al. Androgen levels following a football match. *Eur J Appl Physiol* 1985;54:494-6.
- 15) Velardo A, Pantaleoni M, Valerio L, et al. Influence of exercise on dehydroepiandrosterone sulphate and d₄-androstenedione plasma levels in man. *Exp Clin Endocrinol* 1991;97:99-101.
- 16) National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard*. 4th ed. NCCLS Document H3-A4, Wayne, PA: NCCLS, 1998.

Technical Assistance

In the United States, contact DPC's Technical Services department.
Tel: 800.372.1782 or 973.927.2828
Fax: 973.927.4101. Outside the United States, contact your National Distributor.

Manufactured by EURO/DPC Ltd. under a Quality System registered to ISO 13485:2003.

Tables and Graphs

Precision (ng/mL)

	Mean ³	Within-Run ¹		Total ²	
		SD ⁴	CV ⁵	SD	CV
1	0.66	0.06	9.1%	0.10	15.2%
2	1.57	0.08	5.1%	0.13	8.3%
3	3.69	0.23	6.2%	0.27	7.3%
4	4.35	0.23	5.3%	0.28	6.4%
5	9.11	0.58	6.4%	0.87	9.5%

Linearity (ng/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	8 in 8	4.03	—	—
	4 in 8	1.93	2.02	96%
	2 in 8	0.93	1.01	92%
	1 in 8	0.45	0.50	89%
2	8 in 8	4.33	—	—
	4 in 8	2.15	2.17	99%
	2 in 8	0.99	1.08	91%
	1 in 8	0.50	0.54	92%
3	8 in 8	4.88	—	—
	4 in 8	2.75	2.44	113%
	2 in 8	1.10	1.22	90%
	1 in 8	0.51	0.61	84%
4	8 in 8	6.62	—	—
	4 in 8	3.73	3.31	113%
	2 in 8	1.61	1.66	97%
	1 in 8	0.75	0.83	91%
5	8 in 8	7.70	—	—
	4 in 8	4.18	3.85	109%
	2 in 8	1.97	1.93	102%
	1 in 8	1.02	0.96	106%

Recovery (ng/mL)

	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	0.77	—	—
	A	1.27	1.23	103%
	B	2.9	2.73	106%
	C	6.01	5.73	105%
2	—	0.83	—	—
	A	1.24	1.29	96%
	B	2.73	2.79	98%
	C	5.73	5.79	99%
3	—	1.12	—	—
	A	1.48	1.56	95%
	B	3.06	3.06	100%
	C	6.59	6.06	109%
4	—	1.26	—	—
	A	1.59	1.70	94%
	B	3.26	3.20	102%
	C	5.1	6.20	82%
5	—	3.54	—	—
	A	4.00	3.86	104%
	B	5.84	5.36	109%
	C	9.14	8.36	109%

Bilirubin

	Unspiked ³	Conjugated ¹		Unconjugated ²	
		100 mg/L	200 mg/L	100 mg/L	200 mg/L
1	2.3	2.3	2.7	2.7	2.6
2	2.4	2.5	2.7	2.9	2.8
3	4.5	4.3	4.8	5.0	4.9
4	6.5	7.1	8.3	7.7	8.4

Hemolysis

	Unspiked ²	Hemoglobin ¹		
		135 mg/dL	270 mg/dL	540 mg/dL
1	2.3	2.9	2.6	2.9
2	2.4	2.2	2.4	2.8
3	4.5	4.5	5.0	4.9
4	6.5	7.7	8.7	8.4

Lipemia

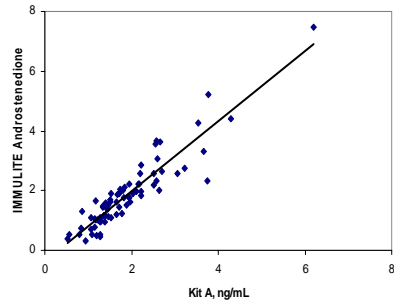
	Triglycerides Added ¹ mg/dL	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	2.03	—	—
	1,000	2.10	1.93	109%
	2,000	1.89	1.83	103%
	3,000	1.64	1.73	95%
2	—	2.27	—	—
	1,000	1.99	2.16	92%
	2,000	1.71	2.04	84%
	3,000	1.68	1.93	87%
3	—	3.71	—	—
	1,000	3.47	3.52	99%
	2,000	3.13	3.34	94%
	3,000	2.90	3.15	92%
4	—	6.42	—	—
	1,000	5.62	6.10	92%
	2,000	5.01	5.78	87%
	3,000	4.71	5.46	86%
5	—	9.96	—	—
	1,000	8.40	9.46	89%
	2,000	6.67	8.96	74%
	3,000	6.42	8.47	76%

Specificity

Compound ¹	ng/mL Added ²	Apparent ng/mL ³	% Cross-reactivity ⁴
Adrenosterone	30	2.74	9.1%
Aldosterone	10,000	ND	ND
5 β -Androstan-3 α ,17 β -diol	1,000	ND	ND
Δ^4 -Androsten-11 β -ol-3,17-dione	50	1.62	3.2%
Androsterone	500	2.09	0.42%
Cholesterol	1,000	ND	ND
Corticosterone	1,000	ND	ND
Cortisol	10,000	1.52	0.02%
Cortisone	1,000	0.58	0.06%
Dexamethasone	1,000	ND	ND
DHEA	33	< 0.3	ND
	16.5	< 0.3	ND
DHEA-SO ₄	15,000	0.55	0.004%
	7,500	0.42	0.006%
Deoxycorticosterone	2,000	1.55	0.08%
Estradiol-17 β	10,000	0.61	0.006%
Estriol	1,000	ND	ND
Estrone	1,000	ND	ND
11-Ketotestosterone	1,500	1.6	0.11%
Norethindrone	1,000	0.5	0.05%
17 α -Hydroxyprogesterone	10,000	4.4	0.04%
Pregnenolone	10,000	ND	ND
Prednisone	1,000	0.49	0.05%
Progesterone	1,000	1.93	0.19%
Spironolactone	1,000	0.39	0.04%
5 α -Dihydrotestosterone	1,000	2.32	0.23%
Testosterone	100	1.47	1.5%

ND: not detectable⁵

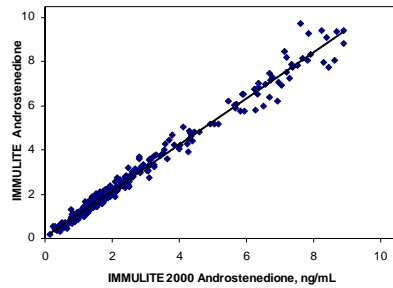
Method Comparison 1



$$(IML) = 1.17 (\text{Kit A}) - 0.37 \text{ ng/mL}$$

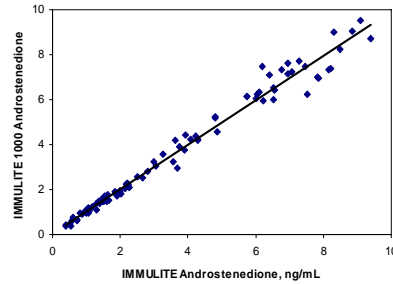
$$r = 0.924$$

Method Comparison 2



$$(IML) = 1.04 (IML\ 2000) + 0.09\text{ ng/mL}$$
$$r = 0.992$$

Method Comparison 3



$$(IML\ 1000) = 0.99 (IML) + 0.04\text{ ng/mL}$$
$$r = 0.991$$

Deutsch. Precision: ¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴SD (Standardabweichung), ⁵CV (Variationskoeffizient). Linearity: ¹Verdünnung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵8 in 8. Recovery: ¹Lösung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E. Specificity: ¹Verbindung, ²zugesetzte Menge, ³Gemessene Konzentration, ⁴% Kreuzreaktivität, ⁵NN: Nicht nachweisbar. Effect of Bilirubin: ¹Konjugiertes, ²Unkonjugiertes, ³Ohne Zugabe von. Effect of Hemolysis: ¹Hämoglobin, ²Ohne Zugabe von. Lipemia: ¹Triglyceride Menge, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E. Method Comparison: ZEngKitName: Androstendion.

Español. Precision: ¹Intraensayo, ²Total, ³Media, ⁴DS, ⁵CV. Linearity: ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 en 8. Recovery: ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. Specificity: ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³Concentración aparente, ⁴% Reacción cruzada, ⁵ND: no detectable. Effect of Bilirubin: ¹conjugada, ²libre, ³Sin añadir. Effect of Hemolysis: ¹Hemoglobina, ²Sin añadir. Lipemia: ¹Triglicéridos añadida, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. Method Comparison: ZEngKitName: Androstenediona.

Français. Precision: ¹Intraessai, ²Total, ³Moyenne, ⁴SD, ⁵CV. Linearity: ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A, ⁵8 dans 8. Recovery: ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A. Specificity: ¹Composé, ²ajouté, ³Concentration apparente, ⁴Réaction croisée %, ⁵ND: non détectable. Effect of Bilirubin: ¹Conjuguée, ²Non conjuguée, ³Non chargés. Effect of Hemolysis: ¹Hémoglobine, ²Non chargés. Lipemia: ¹Triglycérides ajouté, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A. Method Comparison: ZEngKitName: Androstenedione.

Italiano. Precision: ¹Intra-serie, ²Totale, ³Media, ⁴SD (Deviazione Standard), ⁵CV (Coefficiente di Variazione). Linearity: ¹Diluizione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A, ⁵8 in 8. Recovery: ¹Soluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A. Specificity: ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Concentrazione apparente, ⁴Percentuale di Crossreattività, ⁵ND: non determinabile. Effect of Bilirubin: ¹Coniugata, ²Non coniugata, ³Semplice. Effect of Hemolysis: ¹Emoglobina, ²Semplice. Lipemia: ¹Trigliceridi aggiunta, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A. Method Comparison: ZEngKitName: Androstenedione.

Português. Precision: ¹Entre-ensaios, ²Total, ³Média, ⁴Desvio padrão, ⁵Coeficiente de variação. Linearity: ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 em 8. Recovery: ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. Specificity: ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Apparent Concentration, ⁴Percentagem de reacção cruzada, ⁵ND: não detectável. Effect of Bilirubin: ¹Conjugada, ²Não conjugada, ³Não adicionada. Effect of Hemolysis: ¹Hemoglobina, ²Não adicionada. Lipemia: ¹Triglicéridos adicionada, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. Method Comparison: ZEngKitName: Androstenediona.

Deutsch

IMMULITE Androstendion

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung des IMMULITE Systems. Für die quantitative Bestimmung von Δ^4 -Androstendion in humanem Serum.

Artikelnummern: LKA01 (100 Tests), LKA05 (500 Tests)

Testcode: AND Farbe: braun

Klinische Relevanz

Δ^4 -Androstendion ist ein Steroid, das die hauptsächliche Vorstufe für Testosteron und Östron darstellt.^{1,2,3} Es ist klinisch interessant auf Grund der Tatsache, dass es in Fällen von abnormalem

Haarwachstum (Hirsutismus) und Virilisierung erhöht gefunden wird.^{1,6,8-12}

Anders als die Nebennierenrinden-Androgene Dehydroepiandrosteron (DHEA) und seine sulfatierte Form (DHEA-S) stammt das Androstendion aus der Nebennierenrinde und dem Ovar.^{1,12,13} Die Plasmaspiegel steigen ab dem 17. Lebensjahr kontinuierlich an und beginnen nach der dritten Dekade wieder allmählich abzufallen.^{2,4,13} Androstendion unterliegt einer tageszeitlichen Schwankung mit höchsten Werten am Morgen und einer zyklischen Schwankung mit höchsten Werten nahe der Zyklusmitte.^{1,5,14,15} Während der Schwangerschaft werden erhöhte Plasmaspiegel beobachtet.^{3,11}

Methodik

Der Androstendion – IMMULITE/IMMULITE 1000 Test ist ein kompetitiver Festphasen-, Chemilumineszenz-Immunoassay.

Inkubationszyklen: 1 x 60 min.

Probengewinnung

Weder EDTA noch Heparin-Plasma sind zur Verwendung zu empfehlen.

Lipämische, hämolytische, ikterische oder stark kontaminierte Proben können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Der Einsatz einer Ultrazentrifuge wird zur Klärung von lipämischen Proben empfohlen.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analyseergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantientherapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab. Der IMMULITE/IMMULITE 1000 Androstendion Assay ist nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen

ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 25 µl Serum. (Inhalt der Probenträger muss mindestens 100 µl über der erforderlichen Gesamtmenge liegen.)

Lagerung: 24 Stunden bei 2–8°C oder 2 Monate (aliquotiert) bei –20°C.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.

Reagenzien: Bei 2–8 °C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Chemilumineszenz-Substrat: Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden. Siehe Packungsbeilage.

Wasser: Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser benutzen.

Im Lieferumfang enthalten

Die Komponenten sind aufeinander abgestimmt. Die Barcode-Aufkleber werden für den Assay benötigt.

Androstendion Testeinheiten (LAO1)

Jede mit Barcode-Etikette versehene Einheit enthält eine Polystyrol-Kugel beschichtet mit Anti-Androstendion-Antikörpern (polyklonal, Kaninchen). Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.

LKAO1: 100 Testeinheiten.

LKAO5: 500 Testeinheiten.

Verpackte Testeinheiten vor dem Öffnen stehen lassen, bis sie Raumtemperatur erreicht haben. Oben entlang der Kante aufschneiden, ohne den Plastikverschluss zu beschädigen. Verpackungen wieder dicht verschließen, damit der Inhalt trocken bleibt.

Androstendion Reagenzbehälter (LAO2)

Barcodiert. 7,5 ml alkalische Phosphatase konjugiert mit Androstendion im Puffer. Verschluss und gekühlt aufbewahren: Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar. Bei entsprechender Lagerung beträgt die empfohlene Verbrauchsfrist nach dem Öffnen 30 Tage.

LKA01: 1 Behälter. **LKA05:** 5 Behälter.

Androstendion Kalibratoren (LAOL, LAOH)

Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) à 2 ml, mit Androstendion in einer prozessierten humanen Serum-Matrix. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).

LKA01: 1 Set. **LKA05:** 2 Sets.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

LSUBX: Chemilumineszenz-Substrat

LPWS2: Waschmodul

LKPM: Reinigungsmodul

LCHx-y: Halterungen für die Probenträger (mit Barcodierung)

LSCP: Probenträger (Einwegartikel)

LSCC: Verschlüsse für die Probenträger (optional)

CON6: Multikomponentenkontrolle in drei Konzentrationen.

Ebenfalls benötigt
Transferringpipetten für die Proben;
destilliertes bzw. deionisiertes Wasser;
Kontrollen.

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im IMMULITE oder IMMULITE 1000-Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Das Handbuch für das IMMULITE bzw. IMMULITE 1000 enthält die Anweisungen für: Vorbereitung, Geräteeinstellungen, Verdünnungen, Kalibrierung, Testdurchführung und Qualitätskontrollen.

Überprüfen Sie jedes Testeinheit auf das Vorhandensein der Polystyrol-Kugel vor dem Einsetzen in das Gerät.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen.

Qualitätskontrollproben: Kontrollen oder Poolserum mit Androstendion in zumindest zwei Konzentrationen (niedrige und hohe) verwenden.

Referenzwerte

Eine Referenzwerte-Studie mit Serumproben von 48 männlichen und 58 weiblichen gesunden Labormitarbeitern wurde mit dem IMMULITE / IMMULITE 1000 Androstendion Verfahren durchgeführt:

Männer: Median: 1,8 ng/ml (6,3 nmol/l)
95% Bereich: 0,7 – 3,6 ng/ml
(2,4 – 12,6 nmol/l)

Frauen: Median: 1,9 ng/ml (6,6 nmol/l)
95% Bereich: 0,3 – 3,5 ng/ml
(1,0 – 12,2 nmol/l)

Diese Grenzwerte sind *lediglich als Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

Grenzen der Methode

Der wachsende Graafsche-Follikel sezerniert Androstendion mit einem bis zu zweifachen Anstieg der Produktion in der Nähe der Zyklusmitte. Proben, die in diesem Zeitraum entnommen wurden, können deshalb Werte über der Obergrenze des zentralen 95%-Bereichs aufweisen.^{1,2}

Eine tageszeitliche Schwankung wurde beobachtet. Zum Beispiel wurde bei 11 gesunden Männern im Alter zwischen 18 und 30 Jahren die mittlere Androstendion-Konzentration in 24 Stunden mit 0,93 ng/ml gefunden, mit einer zirkadianen Amplitude von 42% des Mittelwertes. Der Hauptanstieg erfolgte am Morgen um 7:10 Uhr; das Maximum wurde am Abend um 23:00 Uhr erreicht und es gab einen zweiten Anstieg um 16:35 Uhr. Der 95% Vertrauensbereich für Anstieg/Maximum war 68 Minuten.¹³ Dementsprechend sollte der Zeitpunkt der Blutentnahme notiert werden.

Es wird daran erinnert, dass körperliches Training einen signifikanten Einfluss auf die zirkulierenden Androstendion Spiegel hat. In einer Studie mit 18 professionellen Fußballspielern stieg die mittlere Androstendion Konzentration von den Basalwerten auf 0,9 bis 1,8 ng/ml zum Spielende an und fiel nach 90 Minuten wieder auf 0,7 ng/ml ab.¹⁴ In einer

weiteren Studie stieg der Androstendion Spiegel bei 20 moderat trainierten Männern signifikant vom Basalmittelwert von 1,11 ng/ml auf 1,41 ng/ml nach 1 Stunde Schwimmen an.¹⁵

Heterophile Antikörper in Humansenen können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des in vitro Immunoassays verursachen. (Clin. Chem. 1988;34:27-33) Proben von Patienten, die häufig mit Tier- bzw. Tierserumprodukten zu tun haben, können die erwähnten Interferenzen verursachen und zu anomalen Resultaten führen. Die verwendeten Reagenzien sind so konzipiert, dass das Risiko einer Interferenz mit den zu messenden Proben minimiert ist. Dennoch können potentiell Interaktionen zwischen seltenen Seren und den Testkomponenten auftreten. Zu diagnostischen Zwecken sollten die mit dem Assay erhaltenen Ergebnisse immer in Kombination mit der klinischen Untersuchung, der Patientenanamnese und anderen Befunden gesehen werden.

Leistungsdaten

Siehe Tabellen und Grafiken mit repräsentativen Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind als ng/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Umrechnungsfaktor:
ng/ml \times 3,4916 \rightarrow nmol/l

Messbereich: 0,3 – 10 ng/ml
(1,04 to 35 nmol/l),

Analytische Sensitivität: 0,3 ng/ml
(1,0 nmol/l),

Präzision: Proben wurden innerhalb von mehreren Tagen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen). (Siehe Tabelle "Precision").

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Linearität“.)

Wiederfindung: Die getesteten Proben wurden mit drei Androstendion-Lösungen (10, 40 und 100 ng/mL) 1:19 versetzt. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Der Antikörper ist hochspezifisch für Androstendion mit extrem niedriger Kreuzreaktivität zu anderen natürlich vorkommenden Steroiden oder Medikamenten, die in Patientenproben vorkommen können. (siehe Tabelle „Specificity“.)

Bilirubin: Es wurden Proben gemessen, denen 100 und 200 mg/l unkonjugiertes und konjugiertes Bilirubin zugesetzt wurde. Es wurden Interferenzen beobachtet. Bilirubin führt zu erhöhten Werten (siehe Tabelle "Bilirubin").

Hämolyse: Es wurden Proben gemessen, denen 135, 270 und 540 mg/dl Hämoglobin zugesetzt wurde. Es wurden Interferenzen beobachtet. Hämolyse führt zu erhöhten Werten (siehe Tabelle "Hemolysis").

Lipämie: Kann zu einer Erniedrigung der Werte führen. (Siehe Tabelle "Lipemia".)

Alternativer Probentyp: Um den Einfluss von alternativen Probentypen zu überprüfen, wurde 26 Freiwilligen Blut in Röhrchen ohne Zusatz, Heparin-Röhrchen, EDTA-Röhrchen und Becton-Dickinson SST[®] Vacutainer-Röhrchen entnommen. Gleiche Volumen derselben Probe wurden mit verschiedenen Konzentrationen an Androstendion versetzt, um Werte über den gesamten Kalibrationsbereich des Assays zu erhalten, und wurden anschließend mit dem IMMULITE Androstendion Assay bestimmt. Berechnung der linearen Regression.

(Heparin) = 0,88 (Serum) – 0,15 ng/ml
r = 0,981

(SST) = 1,04 (Serum) – 0,10 ng/ml
r = 0,989

(EDTA) = Alle Proben waren >10 ng/ml,

Mittelwerte:
3,83 ng/ml (Serum Plastik)
3,20 ng/ml (Heparin Plastik)
3,87 ng/ml (SST Plastik)
>10 ng/ml (EDTA Plastik)

Weder EDTA noch Heparin-Plasma sind zur Verwendung zu empfehlen.

Methodenvergleich 1: Der Assay wurde mit einem kommerziell erhältlichen Solidphasen-Radioimmunoassay für Androstendion (Kit A) anhand von 78 endogenen Patientenproben verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 0,5 – 6 ng/ml.)

Siehe Grafik 1.) Berechnung der linearen Regression:

$$(IML) = 1,17 (\text{Kit A}) - 0,37 \text{ ng/ml}$$
$$r = 0,924$$

Mittelwerte:
1,83 ng/ml (IMMULITE)
1,88 ng/ml (Kit A)

Methodenvergleich 2: Der Assay wurde ebenfalls mit dem IMMULITE 2000 Androstendion Assay von DPC anhand von 334 endogenen und gespikten Proben verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 0,3 – 9,5 ng/ml. Siehe Grafik 2.) Berechnung der linearen Regression:

$$(IML) = 1,04 (\text{IML 2000}) + 0,09 \text{ ng/ml}$$
$$r = 0,992$$

Mittelwerte:
2,69 ng/ml (IMMULITE)
2,49 ng/ml (IMMULITE 2000)

Methodenvergleich 3: Insgesamt wurden 95 Patientenproben mit dem IMMULITE / IMMULITE 1000 Androstendion Assay auf beiden Systemen gemessen. (Konzentrationsbereich: ca. 0,4 – 10 ng/ml. Siehe Grafik 3). Berechnung der linearen Regression:

$$(IML 1000) = 0,99 (\text{IML}) + 0,04 \text{ ng/ml}$$
$$r = 0,991$$

Mittelwerte:
3,53 ng/ml (IMMULITE 1000)
3,52 ng/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

Hergestellt von Euro/DPC Ltd. unter dem Qualitätssystem ISO 13485:2003.

Español

IMMULITE Androstenediona

Utilidad del análisis: Para uso diagnóstico *in vitro* con los Analizadores IMMULITE e IMMULITE 1000 — para la determinación cuantitativa de Δ^4 -androstenedione en suero humano.

Referencia: **LKA01** (100 tests),
LKA05 (500 tests)

Código del Test: **AND**
Código de Color: **Marrón**

Resumen y Explicación del Test

La Δ^4 -Androstendiona es un esteroide que actúa como el precursor principal de la testosterona y la estrona.^{1,2,3} Su interés clínico deriva del hecho de que frecuentemente sus niveles están elevados en los casos de crecimiento anormal del vello (hirsutismo) y en la virilización.^{1,6,8-12}

A diferencia de los andrógenos adrenales, dehidroepiandrosterona y su sulfato, la androstenediona circulante se origina de las glándulas adrenales y los ovarios.^{1,12,13} Los niveles plasmáticos aumentan en forma constante desde aproximadamente el séptimo año de vida, y luego declinan gradualmente después de los treinta años.^{2,4,13} La androstendiona exhibe una variación diurna, siendo mayor en la mañana, y también una variación cíclica durante el ciclo menstrual que es mayor cerca de la mitad del ciclo.^{1,5,14,15} Durante el embarazo hay un aumento en el nivel plasmático.^{3,11}

Principio del análisis

El IMMULITE/IMMULITE 1000 Androstenediona es un inmunoensayo enzimático quimioluminiscente competitivo en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 x 60 minutos.

Recogida de la muestra

No es recomendable el uso de EDTA ni plasma heparinizado.

Las muestras lipémicas, hemolizadas, ictericas o ampliamente contaminadas pueden dar resultados erróneos. Se recomienda el uso de una ultracentrífuga para aclarar las muestras lipémicas.

La centrifugación de las muestras de suero antes de que se forme el coágulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erróneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coágulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulación.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir

valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El Androstendiona IMMULITE/IMMULITE 1000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos. Para obtener detalles sobre los tipos tubos que se han analizado, consulte la sección de Tipos de Muestras Alternativos.

Volumen requerido: 25 µl suero. (El recipiente de la muestra debe contener, como mínimo, 100 µl más que el volumen total requerido.)

Conservación: 24 horas a 2–8°C o 2 months (alícuotado) a –20°C.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo a la legislación en vigor.

Siga las precauciones universales y manipule todos los componentes como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Los materiales derivados de sangre humana han sido analizados y son negativos para sífilis; para anticuerpos frente al HIV 1 y 2; para el antígeno de superficie de hepatitis B y para los anticuerpos de hepatitis C.

Sustrato quimioluminiscente: Evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas de código de barras son necesarias para el ensayo.

Unidades de Reacción de Androstendiona (LAO1)

Cada unidad de reacción con código de barras, contiene una bola recubierta con anticuerpo anti-androstendiona policlonal de conejo. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

LKA01: 100 unidades.

LKA05: 500 unidades.

Espere a que las bolsas de las unidades de análisis alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas. Ábralas cortando por el extremo superior, dejando

el borde del cierre de cremallera intacto. Vuelva a cerrar las bolsas herméticamente para protegerlas de la humedad.

Vial de Reactivo de Androstendiona (LAO2)

Con código de barras. 7,5 ml de fosfatasa alcalina (intestino de ternera) conjugada a androstendiona en solución tampón. Guardar tapado y refrigerado: estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad. Se recomienda utilizarlo antes de que pasen 30 días después de abrirlo cuando se guarda según lo indicado.

LKA01: 1 vial. **LKA05:** 5 viales.

Ajustadores de Androstendiona (LAOL, LAOH)

Dos viales (Bajo y Alto), de 2 ml cada uno, de androstendiona en matriz de suero humano procesado. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrirse, o hasta 6 meses (alícuotados) a –20°C.

LKA01: 1 juego. **LKA05:** 2 juegos.

Componentes del kit que se suministran por separado

LSUBX: Sustrato quimioluminiscente

LPWS2: Lavado de sonda

LKPM: Kit de limpieza de sonda

LCHx-y: Soportes de recipientes de muestras (con códigos de barras)

LSCP: Recipientes de muestras (desechables)

LSCC: Tapas para los recipientes de muestras (opcionales)

CON6: control multiconstituyente de tres niveles.

También necesarios

Pipettes de transfert à échantillon ; eau distillée ou désionisée ; Contrôle.

Ensayo

Aviso: para obtener el funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el manual del operador de IMMULITE o IMMULITE 1000.

Ver el Manual del Operador del IMMULITE o IMMULITE 1000 para: preparación, procesamiento, diluciones, ajuste, procedimientos de ensayo y control de calidad.

Inspeccionar visualmente cada unidad de rección para asegurarse de que hay una bola antes de introducirla en el Sistema.

Intervalo de ajuste recomendado:
2 semanas.

Muestras de Control de Calidad: Use controles o pools de muestras con al menos dos niveles (bajo y alto) de androstendiona.

Valores esperados

Se realizó un estudio de rangos de referencia con muestras de suero de 48 hombres y 58 mujeres, adultos voluntarios, con el método IMMULITE/IMMULITE 1000 Androstendiona.

Hombres: Media: 1,8 ng/ml (6,3 nmol/l)
Rango Central 95%: 0,7 – 3,6 ng/ml
(2,4 – 12,6 nmol/l)

Mujeres: Media: 1,9 ng/ml (6,6 nmol/l)
Rango Central 95%: 0,3 – 3,5 ng/ml
(1,0 – 12,2 nmol/l)

Estos límites han de considerarse *sólo como una guía*. Cada laboratorio deberá establecer sus propios intervalos de referencia.

Limitaciones

El folículo de De Graaf en crecimiento secreta androstendiona, y su producción aumenta al doble cerca de la mitad del ciclo. Por lo tanto, las muestras que se recojan durante este momento pueden producir resultados de androstendiona por arriba del límite superior 95% central.^{1,2}

Se ha observado variación diurna. Por ejemplo, en 11 hombres sanos de 18 a 30 años de edad, la concentración de androstendiona media de 24 horas fue 0,93 ng/ml, con una amplitud circadiana equivalente al 42% de la media. El punto más alto ocurrió en la mañana a las 07:10 horas y el punto más bajo ocurrió a la noche a las 23:00 horas; también hubo una fase alta secundaria a las 16:35 horas. El intervalo de confianza del 95% para el punto más alto y el punto más bajo fue de 68 minutos.¹³ Por consiguiente, se deberá registrar la hora en que se recoja la muestra.

Es importante recordar que el ejercicio puede tener un efecto significativo sobre los niveles de androstenediona circulante. Por ello, en un estudio de 18 jugadores

profesionales de fútbol, la concentración media de androstendiona aumentó de un valor basal de aproximadamente 0,9 ng/ml a 1,8 ng/ml al final del juego, declinando a 0,7 ng/ml noventa minutos más tarde.¹⁴

En otro estudio, el nivel medio de androstendiona para 20 hombres en un entrenamiento moderado aumentó significativamente de un valor basal medio de 1,11 ng/ml a 1,41 ng/ml cinco minutos después de hacer una hora de natación.¹⁵

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis in vitro. [Ver Boscatto LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo, consulte las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en ng/ml. (A no ser que se indique lo contrario, todos los resultados fueron generados en muestras de suero recogidas en tubos sin geles o activadores de la coagulación.)

Factor de Conversión:
ng/ml × 3,4916 → nmol/l

Intervalo de calibración: 0,3 – 10 ng/ml
(1,04 to 35 nmol/l),

Sensibilidad analítico: 0,3 ng/ml
(1,0 nmol/l),

Precisión: Se analizaron muestras por duplicado durante varios días, para un total de 40 ensayos y 80 replicados. (Véase la tabla "Precisión".)

Linealidad: Las muestras fueron analizadas con varias diluciones. (Véase la tabla "Linealidad" para resultados representativos.)

Recuperación: Se analizaron muestras de 1 a 19 sobrecargadas con 3 soluciones de androstendiona (10, 40 y 100 ng/ml). (Ver la tabla "Recuperación" para resultados representativos.)

Especificidad: El anticuerpo es altamente específico para androstendiona, con reactividad cruzada extremadamente baja a otros esteroides naturales o drogas terapéuticas que puedan estar presentes en las muestras de pacientes. (Véase la tabla "Especificidad".)

Bilirrubina: Se analizaron muestras sobrecargadas con 100 y 200 mg/l de bilirrubina conjugada y no conjugada. La Bilirrubina puede interferir con el ensayo, provocando elevaciones. (Ver tabla "Bilirrubina".)

Hemólisis: Se analizaron muestras sobrecargadas con 135, 270 y 540 mg/dl de hemoglobina. La Hemólisis puede interferir con el ensayo, provocando aumento de los valores. (Ver Tabla "Hemólisis".)

Lipemia: Puede provocar una disminución de los valores. (Ver Tabla "Lipemia".)

Tipo de Muestra Alternativa: Para determinar el efecto de tipos de Muestra Alternativa, se recogió sangre de 26 voluntarios en tubos de plástico para suero, con heparina, EDTA y Becton Dickinson SST[®]. Volúmenes iguales de muestra se sobrecargaron con varias concentraciones de androstendiona, para obtener valores a lo largo de la curva de calibración del ensayo, y se procesaron con los métodos IMMULITE Androstendiona.

(Heparina) = 0,88 (Suero) – 0,15 ng/ml
r = 0,981

(SST) = 1,04 (Suero) – 0,10 ng/ml
r = 0,989

(EDTA) = Todas las muestras fueron >10 ng/ml

Medias:
3,83 ng/ml (Suero Plástico)
3,20 ng/ml (Heparina Plástico)
3,87 ng/ml (SST Plástico)
>10 ng/ml (EDTA Plástico)

No se recomienda el uso de EDTA ni plasma heparinizado.

Método Comparativo 1: El ensayo se comparó con un radioinmunoensayo en fase sólida para Androstendiona disponible comercialmente (Kit A) con 78 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 0,5 a 6 ng/ml. Ver gráfica 1.) Por regresión lineal:

(IML) = 1,17 (Kit A) – 0,37 ng/ml
r = 0,924

Medias:
1,83 ng/ml (IMMULITE)
1,88 ng/ml (Kit A)

Método Comparativo 2: El ensayo se comparó también con el método de DPC IMMULITE 2000 Androstendiona en 334 muestras endógenas y sobrecargadas. (Intervalo de concentración: aproximadamente 0,3 a 9,5 ng/ml. Ver gráfica 2.) Por regresión lineal:

(IML) = 1,04 (IML 2000) + 0,09 ng/ml
r = 0,992

Medias:
2,69 ng/ml (IMMULITE)
2,49 ng/ml (IMMULITE 2000)

Método Comparativo 3: Un total de 95 muestras de pacientes se procesaron con el ensayo IMMULITE/IMMULITE 1000 en los dos sistemas. (Intervalo de concentración: aproximadamente 0,4 a 10 ng/ml. Ver gráfica "Método Comparativo 3"). Por regresión lineal:

(IML 1000) = 0,99 (IML) + 0,04 ng/ml
r = 0,991

Medias:
3,53 ng/ml (IMMULITE 1000)
3,52 ng/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

Fabricado por EURO/DPC Ltd. bajo un Sistema de Calidad acorde con la ISO 13485:2003.

Français

IMMULITE Androstèdione

Domaine d'utilisation: Dosage quantitatif de l' Δ 4-androstèdione dans le sérum humain. Réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec les analyseurs IMMULITE et IMMULITE 1000.

Référence catalogue : **LKA01** (100 tests),
LKA05 (500 tests)

Code produit : **AND**
Code couleur : **marron**

Introduction

La Δ 4-Androstènedione est un stéroïde qui sert de précurseur majeur à la testostérone et l'estrone.^{1,2,3} L'intérêt clinique provient de son élévation fréquente dans les cas d'hirsutisme et de virilisation.^{1,6,8-12}

A la différence des androgènes surrénaliens déhydroépiandrostérone (DHEA) et sa forme sulfatée (DHEA-S), l'androstènedione circulant provient pour une part des glandes surrénales et pour l'autre des ovaires.^{1,12,13} Le taux plasmatique augmente régulièrement au cours des 7 premières années de la vie, ensuite graduellement décline après 30 ans.^{2,4,13} La Δ 4-Androstènedione présente des variations diurnes, étant élevée le matin avec des variations cycliques au cours du cycle menstruel, pic au milieu du cycle.^{1,5,14,15} Durant la grossesse, le taux plasmatique est augmenté.^{3,11}

Principe du test

IMMULITE/IMMULITE 1000 Androstènedione est un immunodosage enzymatique chimiluminescent par compétition en phase solide.

Cycles d'incubation : 1 x 60 minutes.

Recueil des échantillons

L'utilisation du plasma EDTA ou hépariné n'est pas recommandée.

Des échantillons lipémiques, hémolysés, ictériques ou fortement contaminés peuvent donner des résultats erronés. Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, s'assurer de la formation complète du caillot avant de centrifuger les échantillons. Certains échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous anti-coagulants, peuvent

nécessiter un temps plus long pour la formation du caillot.

Des tubes pour prélèvements sanguins provenant de fabricants différents peuvent donner des résultats différents, selon les matériaux et additifs utilisés, y compris gels ou barrières physiques, activateurs de la coagulation et/ou anticoagulants. Le coffret Androstènedione IMMULITE/IMMULITE 1000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles. Veuillez consulter le chapitre intitulé Autres Types d'Échantillons pour plus de renseignements sur les tubes qui ont été évalués.

Volume nécessaire : 25 µl de sérum. (La cupule à réaction doit contenir au moins 100 µl de plus que le volume total nécessaire.)

Conservation: 24 heures à +2–8°C ou 2 mois (aliquoté) à –20°C.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Réactifs : Conserver les réactifs à +2°/+8 °C. Éliminer les déchets conformément aux lois en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-VHC et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

Substrat chimiluminescent : Éviter toute contamination et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser de l'eau distillée ou désionisée.

Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à code-barre sont nécessaires au dosage.

Tests unitaires Androstènedione (LAO1)

Chaque unité à code-barre contient une bille revêtue d'anticorps polyclonal de lapin anti-androstènedione. Stable à +2/ +8 °C

jusqu'à la date de péremption.
LKA01: 100 unités. **LKA05**: 500 unités.

Porter les sachets à température ambiante avant d'ouvrir. Ouvrir le sachet avec des ciseaux en préservant le dispositif de fermeture. Refermer les sachets pour les protéger de l'humidité.

Cartouche à réactif Androstènedione (LA02)

Avec code-barre. 7,5 ml d'androstènedione conjuguée à de la phosphatase alcaline (intestins de veaux) dans un tampon. Conserver bouché et réfrigéré : stable à +2/ +8 °C jusqu'à la date de péremption. A utiliser de préférence dans les 30 jours qui suivent l'ouverture, si les recommandations de stockage sont respectées.

LKA01: 1 cartouche.
LKA05: 5 cartouches.

Ajusteurs Androstènedione (LAOL, LAOH)

Deux flacons (Bas et Haut), de 2 ml chacun, contenant de l'androstènedione dans une matrice de sérum humain prétraité. Stable à +2/ +8 °C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à -20 °C.

LKA01: 1 jeu. **LKA05**: 2 jeux.

Composants du coffret fournis séparément

LSUBX : Substrat chimiluminescent
LPWS2 : Solution de lavage
LKPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement
LCHx-y : Supports pour godets échantillons (avec code-barre)
LSCP : Godets échantillons (à usage unique)
LSCC : Bouchons pour godets échantillons (optionnel)

CON6 : contrôle à trois niveaux de concentration, à constituants multiples.

Egalement requis
Pipettes de transfert d'échantillon ; eau distillée ou désionisée ; Contrôles.

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel

d'Utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000.

Voir le manuel d'utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000 pour la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Vérifier visuellement que chaque Unité-Test contient bien une bille avant de la charger dans l'automate.

Intervalle d'ajustement recommandé : 2 semaines.

Echantillons pour le contrôle de qualité : Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) d'androstènedione.

Valeurs de référence

Une étude de valeurs de référence a été réalisée avec des échantillons sériques de 48 hommes et 58 femmes adultes doses sur IMMULITE/IMMULITE 1000 Androstènedione.

Hommes: Moyenne: 1,8 ng/ml (6,3 nmol/l)
Domaine centré 95% : 0,7 – 3,6 ng/ml (2,4 – 12,6 nmol/l)

Femmes: Moyenne: 1,9 ng/ml (6,6 nmol/l)
Domaine centré 95%: 0,3 – 3,5 ng/ml (1,0 – 12,2 nmol/l)

Utiliser ces valeurs à *titre indicatif uniquement*. Chaque laboratoire devra établir ses propres valeurs de référence.

Limites

Le follicule de Graaf en croissance sécrète de l'androstènedione, doublant son taux basal en milieu de cycle. Les échantillons prélevés durant cette période ont des résultats en androstènedione se situant dans la partie supérieure des valeurs physiologiques définies à 95%.^{1,2}

Des variations diurnes ont été observées. Par exemple, chez 11 hommes de 18 à 30 ans, la concentration moyenne en androstènedione de 24 heures est de 0,93 ng/ml, avec une amplitude circadienne équivalente à 42 % de la moyenne. L'acrophase majeure se rencontre le matin vers 7 h 10 ; le nadir majeur est observé vers 23 heures; et il existe aussi une seconde acrophase vers 16h35. L'intervalle de confiance pour acrophase/nadir est de 68 minutes.¹³ En

conséquence il est nécessaire de noter l'heure du prélèvement.

Ne pas oublier que l'exercice physique a un impact significatif sur le taux d'androstènedione circulant. Ainsi, dans une étude portant sur 18 joueurs professionnels de football, la moyenne du taux d'androstènedione est augmentée par rapport au taux basal, et se situe approximativement de 0,9 ng/ml à 1,8 ng/ml à la fin du match, atteignant 0,7 ng/ml 90 minutes plus tard.¹⁴ Dans une autre étude, la moyenne du taux d'androstènedione pour 20 hommes moyennement entraînés augmente significativement par rapport au taux basal de 1,11 ng/ml à 1,41 ng/ml cinq minutes après 1 heure de natation.¹⁵

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages in vitro. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances de ce test. Les résultats sont donnés en ng/ml. (En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques recueillis en tubes, sans gel ni activateur de la coagulation.)

Facteur de conversion :

ng/ml \times 3,4916 \rightarrow nmol/l

Intervalle de linéarité : 0,3 – 10 ng/ml (1,04 to 35 nmol/l),

Sensibilité analytique : 0,3 ng/ml (1,0 nmol/l),

Précision : les échantillons ont été dosés en duplicata sur plusieurs jours, pour obtenir un total de 40 séries et 80 replicata. (Voir le tableau « Precision ».)

Test de dilution : Des échantillons ont été dosés à différentes concentrations. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Test de récupération : Des échantillons chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions d'androstènedione (10, 40 et 100 ng/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : L'anticorps utilisé est hautement spécifique de l'androstènedione et présente de très faibles réactivités croisées avec divers autres stéroïdes ou médicaments pouvant se trouver dans les échantillons des patients (Voir le tableau « Specificity ».)

Bilirubine : Des échantillons chargés avec 100 et 200 mg/l de bilirubine libre et ont été analysés. La bilirubine peut interférer sur ce dosage, causant une élévation des valeurs. (Voir le tableau "Bilirubin".)

Hémolyse : Des échantillons chargés avec 135, 270 et 540 mg/dl d'hémoglobine ont été analysés. L'hémolyse peut interférer sur ce dosage, causant une élévation des valeurs. (Voir le tableau "Hemolysis".)

Lipémie : Peut entraîner une baisse des valeurs. (Voir le tableau "Lipemia".)

Autres types d'échantillons: Afin de déterminer le rôle éventuel d'autres types d'échantillons, le sang de 26 volontaires a été recueilli sur tubes vacutainers en plastique secs, héparinés, EDTA et Becton Dickinson SST®. Des volumes égaux de ces divers échantillons ont été chargés avec différentes concentrations d'androstènedione pour obtenir des valeurs comprises dans le domaine de mesure du dosage et ensuite dosés avec la procédure IMMULITE Androstènedione.

(Héparine) = 0,88 (Sérum) – 0,15 ng/ml
r = 0,981

(SST) = 1,04 (Sérum) – 0,10 ng/ml
r = 0,989

(EDTA) = Tous les échantillons étaient >10 ng/ml

Moyennes :
3,83 ng/ml (Sérum Plastique)
3,20 ng/ml (Héparine Plastique)
3,87 ng/ml (SST Plastique)
>10 ng/ml (EDTA Plastique)

L'utilisation du plasma EDTA ou hépariné n'est pas recommandée.

Comparaison de méthode 1: Ce dosage a été comparé à une autre radioimmunosaggio en phase solide pour l'androstenedione (Kit A) sur 78 échantillons endogènes de patients (intervalle de concentrations : environ de 0,5 à 6 ng/ml. Voir graphique 1.) Par régression linéaire :

(IML) = 1,17 (Kit A) - 0,37 ng/ml
r = 0,924

Moyennes :
1,83 ng/ml (IMMULITE)
1,88 ng/ml (Kit A)

Comparaison de méthode 2: Ce dosage a été également comparé au test IMMULITE 2000 Androstenedione de DPC sur 334 échantillons endogènes et supplémentés. (intervalle de concentrations : environ 0,3 à 9,5 ng/ml. Voir graphique 2.) Par régression linéaire :

(IML) = 1,04 (IML 2000) + 0,09 ng/ml
r = 0,992

Moyennes :
2,69 ng/ml (IMMULITE)
2,49 ng/ml (IMMULITE 2000)

Comparaison de méthode 3: Un total de 95 échantillons de patients a été testé avec le test IMMULITE/IMMULITE 1000 Androstenedione sur les deux systèmes. (intervalle de concentrations : environ de 0,4 à 10 ng/ml. Voir graphique "Method Comparison 3"). Par régression linéaire :

(IML 1000) = 0,99 (IML) + 0,04 ng/ml
r = 0,991

Moyennes :
3,53 ng/ml (IMMULITE 1000)
3,52 ng/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contactez votre distributeur national. En France distribué par DPC France 90 bd National 92257 La Garenne-Colombes.

Fabriqué par EURO/DPC Ltd. dans le cadre d'un Système Qualité enregistré sous ISO 13485:2003.

Italiano

IMMULITE Androstenedione

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con gli Analizzatori IMMULITE ed IMMULITE 1000 — per la determinazione quantitativa del Δ^4 -androstenedione nel siero umano.

Codice: **LKAO1** (100 test),
LKAO5 (500 test)

Codice del Test: **AND** Colore: **marrone**

Riassunto e spiegazione del Test

Il Δ^4 -Androstenedione è uno steroide che serve quale principale precursore del testosterone e dell'estrone.^{1,2,3} L'interesse clinico deriva dal fatto che è spesso elevato nei casi di crescita anomala dei peli (irsutismo) e virilizzazione.^{1,6,8-12}

A differenza degli androgeni surrenali, il deidroepiandrosterone ed il suo solfato, l'androstenedione in circolo hanno origine sia dal surrene che dalle ovaie.^{1,12,13} I livelli plasmatici aumentano in maniera decisa a partire dal settimo anno di età, quindi declinano gradualmente dopo i trenta anni.^{2,4,13} L'androstenedione presenta una variazione diurna, che si presenta più elevata al mattino, ed anche una variazione ciclica durante il ciclo mestruale, con un picco intorno a metà ciclo.^{1,5,14,15} Durante la gravidanza, si verifica un aumento dei livelli plasmatici.^{3,11}

Principio del Dosaggio

Il Dosaggio IMMULITE/IMMULITE 1000 è un dosaggio immunoenzimatico competitivo in chemiluminescenza ed in fase solida.

Cicli d'incubazione: 1 × 60 minuti.

Prelievo dei Campioni

Non devono essere utilizzati campioni di plasma EDTA ed eparinizzato.

I campioni lipemici, emolizzati, itterici o grossolamente contaminati possono produrre risultati errati. Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

La centrifugazione dei campioni di siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE/IMMULITE 1000 Androstenedione non è stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 25 µL di siero. (Il porta campioni deve contenere almeno 100 µL più del volume totale richiesto)

Conservazione: 24 ore a 2–8°C o 2 mesi (aliquotato) a –20°C.

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Eliminare secondo le normative di legge vigenti.

Seguire le precauzioni universali, e manipolare tutti i componenti come se potessero trasmettere agenti infettivi. Sono stati dosati i materiali di origine umana e sono stati trovati non reattivi per la sifilide; per gli anticorpi Anti-HIV 1 e 2; per l'antigene di superficie dell'epatite B; e per gli anticorpi Anti-Epatite C.

Substrato Chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce solare diretta. (vedi metodica).

Acqua: Utilizzare solo acqua distillata o deionizzata.

Materiali forniti

I componenti costituiscono un set misto. Le etichette provviste di codice a barre sono necessarie per il dosaggio.

Test Unit Androstenedione (LAO1)

Ogni unità con codice a barra contiene una biglie coattata con un anticorpo

policlonale di coniglio anti-androstenedione. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

LKA01: 100 unità. **LKA05:** 500 unità.

Le buste delle test unit devono essere portate a temperatura ambiente prima dell'apertura. Aprire tagliando lungo il bordo superiore, lasciando intatta la chiusura ermetica. Risigillare le buste per proteggere le sferette dall'umidità.

Porta Reagente Androstenedione (LAO2)

Con codice a barre. 7,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino bovino) coniugata con androstenedione in un tampone. Conservare nel frigorifero sigillato: stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza. Si consiglia di utilizzare il prodotto entro 30 giorni dall'apertura se conservato come indicato.

LKA01: 1 Porta Reagente.

LKA05: 5 Porta Reagenti.

Calibratori Androstenedione (LAOL, LAOH)

Due flaconi (Basso ed Alto), 2 mL ciascuno, di androstenedione in una matrice di siero umano processato. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

LKA01: 1 set. **LKA05:** 2 set.

Componenti del kit forniti separatamente

LSUBX: Substrato Chemiluminescente

LPWS2: Tampone di lavaggio dell'Ago

LKPM: Kit di Pulizia dell'Ago

LCHx-y: Tubi porta campioni (con codice a barre)

LSCP: Porta Campioni (monouso)

LSCC: Coperchi per Porta Campioni (opzionali)

CON6: Controllo multi-costituenti a tre livelli

Materiali richiesti

Pipette per il trasferimento dei campioni; acqua distillata o deionizzata; controlli.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per avere prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definito nel Manuale dell'Operatore IMMULITE o IMMULITE 1000.

Vedi il Manuale dell'Operatore IMMULITE o IMMULITE 1000 per: preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo qualità.

Controllate ogni test unit verificando la presenza della sferetta prima di caricarla sullo strumento.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 2 settimane.

Campioni per il Controllo di Qualità: utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (basso ed alto) di androstenedione.

I Valori Attesi

E' stato effettuato uno studio sul range di riferimento con i Dosaggi IMMULITE/IMMULITE 1000 Androstenedione su campioni di siero provenienti da 48 volontari maschi e 58 volontari femmine.

Maschi: Valore Mediano: 1,8 ng/mL (6,3 nmol/L)
Range Centrale al 95%: 0,7 – 3,6 ng/mL (2,4 – 12,6 nmol/L)

Femmine: Valore Mediano: 1,9 ng/mL (6,6 nmol/L)
Range Centrale al 95%: 0,3 – 3,5 ng/mL (1,0 – 12,2 nmol/L)

Considerare questi limiti *soltanto come linee guida*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

Il follicolo graafiano in crescita secerne androstenedione, ed un aumento doppio nella sua produzione si verifica a metà del ciclo. Campioni prelevati durante questo periodo possono, quindi, produrre risultati di androstenedione al di sopra del limite superiore centrale al 95%.^{1,2}

E' stata osservata una variazione diurna. Ad esempio, in 11 uomini sani di età compresa tra 18 e 30 anni, la concentrazione media di androstenedione nelle 24 ore era di 0,93 ng/mL, con un'ampiezza circadiana uguale al 42% della media. L'acrofase superiore si verificava la mattina alle 7.10; il nadir superiore la sera alle 23.00; vi era anche una seconda acrofase alle 16.35. L'intervallo di confidenza al 95% per l'acrofase/nadir era di 68 minuti.¹³ In maniera analoga occorre annotare l'ora del prelievo.

Occorre ricordare che l'esercizio può avere un impatto significativo sui livelli di androstenedione in circolo. Quindi, in uno studio effettuato su 18 giocatori di calcio professionisti, la media della concentrazione di androstenedione aumentava da un valore base di circa 0,9 ng/mL a 1,8 ng/mL alla fine del gioco, per declinare nuovamente a 0,7 ng/mL novanta minuti dopo.¹⁴ In un altro studio, il livello medio di androstenedione per 20 uomini moderatamente allenati aumentava in maniera significativa da una media di valori di base di 1,11 ng/mL a 1,41 ng/mL cinque minuti dopo un'ora di nuoto.¹⁵

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi in vitro. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tabelle e grafici per i dati *rappresentativi* delle prestazioni del dosaggio. I risultati sono espressi in ng/mL. (Se non diversamente annotato, tutti i risultati sono stati generati da campioni di siero prelevati in tubi senza barriere di gel o additivi che favoriscano la coagulazione.)

Fattore di Conversione:
ng/mL × 3,4916 → nmol/L

Range di Calibrazione: 0,3 – 10 ng/mL (1,04 to 35 nmol/L),

Sensibilità analitica: 0,3 ng/mL (1,0 nmol/L),

Precisione: Sono stati dosati campioni in duplicato nel corso di diversi giorni, per un

totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi tabella "Precision".)

Linearità: I campioni sono stati dosati a varie diluizioni. (Vedi tabella "Linearity" per i dati rappresentativi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 con 3 soluzioni di androstenedione (10, 40 e 100 ng/mL).

(Vedi tabella "Recovery" per i dati rappresentativi).

Specificità: L'anticorpo è molto specifico per l'androstenedione con una crossreattività estremamente bassa verso altri steroidi presenti in natura o farmaci che possono essere presenti nei campioni. (Vedi tabella "Specificity".)

Bilirubina: Sono stati dosati campioni diluiti con 100 e 200 mg/L di bilirubina coniugata e non coniugata. La bilirubina può interferire nel dosaggio provocando elevazioni dei risultati. (Vedi tabella "Bilirubin").

Emolisi: Sono stati dosati campioni diluiti con 135, 270 e 540 mg/dL di emoglobina. L'emolisi può interferire con il dosaggio, provocando elevazioni dei risultati. (Vedi tabella "Hemolysis").

Lipemia: Può provocare una depressione dei valori. (Vedi tabella "Lipemia".)

Tipi di Campione Alternativi: Per determinare l'effetto di Tipi di Campione Alternativi, campioni di sangue sono stati prelevati da 26 volontari in provette di plastica semplici per il siero, provette eparinizzate, EDTA e vacutainer Becton Dickinson SST®. Uguali volumi di campioni misti sono stati aggiunti a varie concentrazioni di androstenedione per ottenere valori lungo tutto il range della calibrazione e quindi dosati con i dosaggi IMMULITE Androstenedione.

(Eparina) = 0,88 (Siero) – 0,15 ng/mL
r = 0,981

(SST) = 1,04 (Siero) – 0,10 ng/mL
r = 0,989

(EDTA) = Tutti i campioni erano >10 ng/mL,

Valore medio:
3,83 ng/mL (Plastica per Siero)
3,20 ng/mL (Plastica per Eparina)
3,87 ng/mL (Plastica SST)
>10 ng/mL (Plastica EDTA)

Non utilizzare né plasma EDTA né plasma eparinizzato.

Compazione di Metodi 1: Il dosaggio è stato comparato ad un radioimmunosaggio in fase solida disponibili in commercio per l'androstenedione (Kit A) su 78 campioni endogeni. (Range di concentrazione: circa da 0,5 a 6 ng/mL. Vedi grafico 1.) Mediante regressione lineare:

(IML) = 1,17 (Kit A) – 0,37 ng/mL
r = 0,924

Valore medio:
1,83 ng/mL (IMMULITE)
1,88 ng/mL (Kit A)

Compazione di Metodi 2: Il dosaggio è stato anche comparato al kit DPC IMMULITE 2000 Androstenedione su 334 campioni endogeni e diluiti. (Range di concentrazione: Circa da 0,3 a 9,5 ng/mL. Vedi grafico 2.) Mediante regressione lineare:

(IML) = 1,04 (IML 2000) + 0,09 ng/mL
r = 0,992

Valore Medio:
2,69 ng/mL (IMMULITE)
2,49 ng/mL (IMMULITE 2000)

Compazione di Metodi 3: Sono stati testati un totale di 95 pazienti con il dosaggio IMMULITE/IMMULITE 1000 Androstenedione su entrambi i sistemi (Range di concentrazione: circa da 0,4 a 10 ng/mL. Vedi grafico "Method Comparison 3"). Mediante regressione lineare:

(IML 1000) = 0,99 (IML) + 0,04 ng/mL
r = 0,991

Valore medio:
3,53 ng/mL (IMMULITE 1000)
3,52 ng/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

All'Estero: Contattare il Proprio Distributore Nazionale.

Prodotto dalla EURO/DPC Ltd. nell'ambito di un Sistema di Qualità Certificato ISO 13485:2003.

Português

IMMULITE Androstenediona

Utilização: Para uso em diagnóstico *in vitro* com os Analisadores IMMULITE e IMMULITE 1000 para a determinação

quantitativa da Δ^4 -androstenediona no soro humano.

Números de catálogo:

LKA01 (100 testes), **LKA05** (500 testes)

Código do teste: **AND** Cor: **Castanho**

Sumário e explicação do teste

A Δ^4 -androstenediona é um esteróide que funciona como dos mais importantes precursores da testosterona e da estrona.^{1,2,3} O seu interesse clínico resulta do facto de ser frequentemente elevada em casos de crescimento anormal do cabelo (hirsutismo) e de virilização.^{1,6,8-12}

Ao contrário dos andrógenos supra-renais dehidroepiandrosterona e respectivo sulfato, a androstenediona em circulação tem origem tanto nas glândulas supra-renais como nos ovários.^{1,12,13} Os níveis no plasma aumentam constantemente a partir aproximadamente do sétimo ano de vida, começando a diminuir gradualmente após os trinta anos.^{2,4,13} A androstenediona apresenta uma variação diurna, tendo o nível mais elevado de manhã, bem como uma variação cíclica durante o período menstrual, apresentando o nível mais elevado perto do meio do período.^{1,5,14,15} Durante a gravidez, verifica-se um aumento dos níveis no plasma.^{3,11}

Princípio do Procedimento

O IMMULITE/IMMULITE 1000 Androstenediona é um ensaio competitivo de fase sólida, com enzimas quimioluminescentes.

Ciclos de incubação: 1 x 60 minutos.

Colheita

Não é recomendado plasma, nem heparinizado nem com EDTA.

Amostras lipémicas, hemolisadas, ictericas ou totalmente contaminadas podem causar resultados errados. Recomenda-se o uso de uma ultra centrífuga para clarear amostras lipémicas.

A centrifugação de amostras de soro antes da formação completa do coágulo pode resultar na presença de fibrina. Para prevenir resultados errados devido à presença de fibrina, certifique-se que a formação do coágulo foi completa antes

da centrifugação das amostras. Algumas amostras, em especial as de doentes que recebem terapia anticoagulante podem requerer um maior tempo de formação do coágulo.

Os tubos para colheita sanguínea de diferentes fabricantes, podem originar diferentes valores, dependendo dos materiais e aditivos, incluindo gel ou barreiras físicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes.

IMMULITE/IMMULITE 1000

Androstenediona não foram ainda testados com todas as possíveis variações originadas pelos tipos de tubos. Consultar a secção Tipos de Amostras Alternativas para obter detalhes sobre os tubos que foram testados.

Volume de Amostra: 25 µL soro. (Cuvete de amostra deve conter um mínimo de 100 µL a mais que o volume total exigido.)

Armazenamento: 24 horas a 2–8°C ou 2 meses (aliquotado) a –20°.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Eliminar de acordo com as leis aplicáveis.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas, obtidas de soro humano, foram testadas, revelando resultados negativos para a sífilis, para os anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2; para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula do substrato).

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais Fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. Os códigos de barras no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Unidades de teste de Androstenediona (LA01)

Cada unidade de teste com código de barras contém uma esfera revestida com

anticorpo policlonal de coelho anti-androstenediona. Estável até a data de validade a 2–8°C.

LKA01: 100 unidades.

LKA05: 500 unidades.

Antes de abrir as saquetas com Unidades de Teste, deixe que estas atinjam a temperatura ambiente. Corte as saquetas pela ranhura superior, mantendo o fecho intacto. Feche novamente as saquetas para proteger contra a humidade.

Embalagem de Reagente de Androstenedione (LAO2)

Com código de barras. 7,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugada a androstenediona em tampão.

Armazene tapado e refrigerado: Estável até à data de validade a 2–8 °C.

Recomenda-se a utilização até 30 dias após aberto quando armazenado de acordo com as indicações.

LKA01: 1 embalagem.

LKA05: 5 embalagens.

Ajustes de Androstenediona (LAOL, LAOH)

Dois frascos (Alto e baixo), 2 mL cada, de androstenediona numa matriz de soro humana processada. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

LKA01: 1 conjunto. **LKA05:** 2 conjuntos.

Componentes do kit fornecidos separadamente

LSUBX: Substrato quimioluminescente

LPWS2: Solução de lavagem

LKPM: Kit de limpeza do pipetador

LCHx-y: Suportes de Cuvetes de Amostra (com código de barras)

LSCP: Cuvetes de Amostra (descartáveis)

LSCC: Tampa de Cuvetes de Amostra (opcional)

CON6: Controlo multiparamétrico de três níveis.

Também necessário

Pipetas de transferência de amostra; água destilada ou desionizada; controlos.

Procedimento de doseamento

Têr em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido

no Manual de Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000.

Ver o Manual do Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000 para: preparação, setup, diluições, ajustes, procedimento do ensaio e controlo de qualidade.

Confirme a presença da esfera em cada Unidade de Teste antes de a colocar no sistema.

Intervalo entre ajustes aconselhável:

2 semanas.

Amostras de controlo de Qualidade:

Usar controlos ou “pool” de amostras com pelo menos dois níveis (alto e baixo) de androstenediona.

Valores de Referência

Um estudo de referência foi executado em amostras de soro de voluntários adultos em 48 homens e 58 mulheres usando o teste de Androstenediona no IMMULITE/IMMULITE 1000.

Homens: Mediana: 1,8 ng/mL (6,3 nmol/L)
zona de 95% : 0,7 – 3,6 ng/mL
(2,4 – 12,6 nmol/L)

Mulheres: Mediana: 1,8 ng/mL (6,6 nmol/L)
zonal 95% : 0,3 – 3,5 ng/mL
(1,0 – 12,2 nmol/L)

Considere estes limites *apenas como directrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores de referência.

Limitações

O folículo de Graaf em crescimento segrega androstenediona e ocorre uma duplicação da sua produção perto de meio do ciclo. Os espécimens colhidos durante este período podem por isso produzir resultados de androstenediona inferiores ao limite superior central de 95%.^{1,2}

Observou-se uma variação diurna. Por exemplo, em 11 homens saudáveis com 18 a 30 anos de idade, a concentração média de 24 horas de androstenediona foi de 0,93 ng/mL, com uma amplitude circadiana igual a 42% da média. A principal acrofase ocorreu de manhã, às 07h10m; a principal batifase ocorreu à noite, às 23h00m; além disso, verificou-se uma acrofase secundária às 16h35m. O intervalo de confiança de 95% para a acrofase/batifase foi de 68 minutos.¹³

Deverá ser registrada a hora da colheita de acordo com estes dados.

Deve notar-se que a prática de exercício pode ter um impacto significativo sobre os níveis de androstenediona em circulação. Deste modo, num estudo em 18 jogadores de futebol profissional, a concentração média de androstenediona aumentou de uma linha basal de aproximadamente 0,9 ng/mL para 1,8 ng/mL no final do jogo, diminuindo para 0,7 ng/mL noventa minutos depois.¹⁴ Noutro estudo, o nível médio de androstenediona em 20 homens com treino físico moderado aumentou significativamente, de uma média basal de 1,11 ng/mL para 1,41 ng/mL cinco minutos após uma hora de natação.¹⁵

Os anticorpos heterófilos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoenaios in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interações entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

Características do Ensaio

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em ng/mL. (Salvo referência em contrário, todos os dados provêm de amostras de soro colhidas em tubos sem anticoagulantes, barreiras de gel ou aditivos promotores da coagulação.)

Factor de conversão:
ng/mL × 3,4916 → nmol/L

Calibração: 0,3 – 10 ng/mL
(1,04 to 35 nmol/L),

Sensibilidade Analítica: 0,3 ng/mL
(1,0 nmol/L)

Precisão amostras foram ensaiadas em duplicado durante vários dias num total de 40 ensaios e 80 duplicados. (Consulte a tabela "Precisão".) (Consulte a tabela "Precisão".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob várias diluições. (Consulte a tabela "Linearidade" para dados representativos.)

Recuperação: amostras foram adicionadas em 1 para 19 com três soluções de androstenediona (10, 40 e 100 ng/mL) e foram ensaiadas. (Vêr tabela de "Recuperação" para dados representativos.)

Especificidade: : O doseamento é específico para androstenediona com uma muito baixa reacção cruzada com outros esteróides naturais que possam ocorrer ou drogas terapêuticas que possam estar presentes nas amostras de doentes. (Vêr tabela de "Especificidade".)

Bilirrubina: Samples spiked with 100 e 200 mg/L de bilirrubina conjugada e não conjugada foram analisadas. A bilirrubina pode interferir com o ensaio causando elevação nos valores obtidos. (Vêr tabela de "bilirrubina".)

Hemólise: : amostras adicionadas com 135, 270 e 540 mg/dL de hemoglobina foram analisadas. A hemólise pode interferir com o ensaio causando elevações nos resultados. (Vêr tabela de "Hemólise".)

Lipémia: pode causar diminuição nos valores. (Vêr tabela de "Lipémia".)

Tipo de amostra alternativa: para estudar o efeito em tipos de amostras alternativas foi colhido sangue de 26 voluntários em tubos lisos de plástico, heparinizados, tubos com EDTA e tubos vacutainer Becton Dickinson SST[®]. Volumes iguais de amostras foram adicionadas com várias concentrações de androstenediona de modo a obter valores ao longo da curva de calibração do ensaio sendo depois ensaiadas pelo teste de Androstenediona no IMMULITE.

(Heparina) = 0,88 (Soro) – 0,15 ng/mL
r = 0,981

(SST) = 1,04 (Soro) – 0,10 ng/mL
r = 0,989

(EDTA) = todas as amostras >10 ng/mL,

Médias:

3,83 ng/mL (soro em plástico)
3,20 ng/mL (Heparina em Plástico)
3,87 ng/mL (SST em Plástico)
>10 ng/mL (EDTA em Plástico)

Nem é recomendado usar plasma, nem com EDTA nem heparinizado.

Método de Comparação 1: o ensaio foi comparado com um kit comercial para a determinação de androstenediona por radioimunoensaio (em fase sólida). (Kit A) em 78 amostras endógenas de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 0,5 a 6 ng/mL. Vêr gráf. 1.) Regressão linear:

(IML) = 1,17 (Kit A) – 0,37 ng/mL
r = 0,924

Médias:

1,83 ng/mL (IMMULITE)
1,88 ng/mL (Kit A)

Método de Comparação 2: o ensaio foi também comparado aos kits da DPC de Androstenediona no IMMULITE 2000 em 334 amostras endógenas e adicionadas. Zona de trabalho: aproximadamente: 0,3 a 9,5 ng/mL. Vêr graf. 2.) Regressão linear:

(IML) = 1,04 (IML 2000) + 0,09 ng/mL
r = 0,992

Médias:

2,69 ng/mL (IMMULITE)
2,49 ng/mL (IMMULITE 2000)

Metodo de Comparação 3: um total de 95 amostras de doentes foram testadas no IMMULITE/IMMULITE 1000 com o kit de Androstenediona nos dois sistemas. Zona de trabalho: aproximadamente: 0,4 a 10 ng/mL. Vêr gráfico de "Metodo de Comparação 3"). Regressão linear:

(IML 1000) = 0,99 (IML) + 0,04 ng/mL
r = 0,991

Médias:

3,53 ng/mL (IMMULITE 1000)
3,52 ng/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

Fabricado pela EURO/DPC Ltd. de acordo com o Sistema de Qualidade registado segundo a norma ISO 13485:2003.

EURO/DPC LTD

Glyn Rhonwy
Llanberis, Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

DPC®

Diagnostic Products Corporation
Corporate Offices
5210 Pacific Concourse Drive
Los Angeles, CA 90045-6900
USA

2006-07-31

PILKAO – 6



EC REP DPC Biermann GmbH
61231 Bad Nauheim
Germany
+49 -6032-994-00