

# Testosterone

Testosterona

cobas

11776061 122

100 testes

## Português

### Função

Imunoensaio para a determinação quantitativa in vitro da testosterona em soro e plasma humanos.

O imunoensaio de electroquimioluminescência (electrochemiluminescence immunoassay ou "ECLIA") foi concebido para ser utilizado nos analisadores de imunoensaios Elecsys 1010/2010 e MODULAR ANALYTICS E170 (Módulo Elecsys) da Roche.

### Características<sup>1,2,3,4</sup>

A testosterona androgénica (17 $\beta$ -hidroxiandrosteno) tem um peso molecular de 288 daltons. Nos homens, a testosterona é sintetizada quase exclusivamente pelas células de Leydig dos testículos. A secreção da testosterona é regulada pela hormona luteinizante (LH) e está sujeita a um feedback negativo através da hipófise e do hipotálamo.

A testosterona promove o desenvolvimento das características sexuais secundárias nos homens e serve para manter a função da próstata e das vesículas seminais.

A maior parte da testosterona circulante está ligada a proteínas de transporte (globulina de ligação da hormona sexual - SHBG = sex hormone binding globulin).

Nas mulheres, formam-se pequenas quantidades de testosterona nos ovários.

Em concentrações fisiológicas, os androgénios não têm quaisquer efeitos específicos sobre as mulheres. Contudo, um aumento da produção de testosterona nas mulheres pode causar virilismo (dependendo do aumento).

A determinação da testosterona nas mulheres auxilia no diagnóstico do síndrome androgénico (AGS), dos ovários poliquísticos (síndrome de Stein-Leventhal) e quando existe suspeita de tumor dos ovários ou das supra-renais, hiperplasia das supra-renais ou insuficiência ovariana.

A testosterona é determinada nos homens quando se suspeita de uma diminuição da produção da testosterona, como por ex. no hipogonadismo, na terapêutica com estrogénios, nos casos de aberrações cromossómicas (como o síndrome de Klinefelter) e na cirrose hepática.

O teste Elecsys Testosterone utiliza um princípio de teste de competição, com um anticorpo monoclonal especificamente dirigido contra a testosterona. A testosterona endógena libertada da amostra pelo ANS (ácido 8-anilino-1-naftaleno sulfónico) e pelo norgestrel compete com o derivado de testosterona, marcado com um complexo de ruténio<sup>a</sup>, para os locais de fixação no anticorpo biotilado.

a) Complexo Tris(2,2'-bipiridil)ruténio(II) (Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>)

### Princípio do teste

Princípio de competição. Duração total do ensaio: 18 minutos.

- 1<sup>a</sup> incubação: 50  $\mu$ l de amostra são incubados com um anticorpo biotilado específico anti-testosterona e um complexo de ruténio marcado com derivado da testosterona. Conforme a concentração do analito na amostra, os locais de ligação do anticorpo marcado são ocupados em parte com analito de amostra e em parte com hapteno marcado com ruténio para formar os respectivos imunocomplexos.
- 2<sup>a</sup> incubação: Após a incorporação das micropartículas revestidas de estreptavidina, o complexo formado liga-se à fase sólida pela interação da biotina e da estreptavidina.
- A mistura de reacção é aspirada para a célula de leitura, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eléctrodo. Os elementos não ligados são então removidos com ProCell. A aplicação de uma corrente eléctrica ao eléctrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador.
- Os resultados são determinados com base numa curva de calibração, que é gerada especificamente pelo analisador por uma calibração de 2 pontos, e uma curva principal incluída no código de barras do reagente.

### Reagentes - soluções de trabalho

Dispositivo de reagentes Elecsys Testosterone, Ref. 11776061 - 100 testes

- M Micropartículas revestidas de estreptavidina (tampa transparente), 1 frasco, 6,5 ml:  
Micropartículas revestidas de estreptavidina, 0,72 mg/ml, capacidade de fixação: 470 ng biotina/mg micropartículas; conservante.
- R1 Anticorpo anti-testosterona-biotina (tampa cinzenta), 1 frasco, 8 ml:

Anticorpo monoclonal biotilado anti-testosterona (ratinho) 55 mg/l; tampão fosfato 40 mmol/l, pH 7,0; conservante.

- R2 Péptido de testosterona~Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> (tampa preta), 1 frasco, 8 ml:  
Derivado de testosterona, marcado com complexo de ruténio 3 ng/ml; reagente de libertação ANS/Norgestrel; tampão fosfato 40 mmol/l, pH 7,0; conservante.

### Precauções e advertências

Para utilização em diagnóstico in vitro.

Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais. Elimine todos os resíduos de acordo com os regulamentos locais.

Ficha de segurança fornecida a pedido, para uso profissional.

**Evite a formação de espuma com todos os reagentes e com todo o tipo de amostras (amostras de pacientes, calibradores e controlos).**

### Preparação dos reagentes

Os reagentes do dispositivo foram incluídos numa unidade pronta a ser utilizada que não pode ser separada.

Toda a informação necessária ao correcto funcionamento é introduzida no analisador através dos respectivos códigos de barras do reagente.

### Conservação e estabilidade

Conservar a 2-8°C.

Coloque o dispositivo de reagentes Elecsys Testosterone **na vertical** para assegurar a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática, antes da utilização.

Estabilidade:

em frasco fechado a 2-8°C:	até ao fim do prazo de validade indicado
após abertura a 2-8°C:	12 semanas
nos analisadores MODULAR ANALYTICS E170:	8 semanas
nos analisadores Elecsys 2010:	8 semanas
nos analisadores Elecsys 1010:	4 semanas (guardado alternadamente no frigorífico e no analisador - temperatura ambiente 20-25°C; até 20 horas no total quando aberto)

### Colheita e preparação das amostras

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

O soro é colhido em tubos de amostra padrão ou com gel separador.

Plasma tratado com heparina-Li, -Na, -NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, EDTA-K<sub>3</sub> e fluoreto de sódio/oxalato de potássio. Se for utilizado citrato de sódio, os resultados têm de ser corrigidos em + 10%.

Critério: Recuperação dentro de 90-110% do valor sérico ou declive 0,9-1,1 + intercepção dentro de  $< \pm 2 \times$  sensibilidade analítica + coeficiente de correlação  $> 0,95$ .

Estabilidade: 1 semana a 2-8°C, 6 meses a -20°C. Congelar apenas uma vez.<sup>5</sup>

Estabilidade do soro colhido em tubos com gel separador:

48 horas a 2-8°C (conforme os dados fornecidos pelo fabricante).

Os diferentes tipos de amostras incluídos na lista foram testados com base numa selecção de tubos de colheita de amostras comercialmente disponíveis na altura em que o teste foi realizado, i.e. nem todos os tubos dos diferentes fabricantes disponíveis no mercado foram testados. Os sistemas de colheita de amostras de diferentes fabricantes podem, por sua vez, conter materiais diferentes que, em alguns casos, podem afectar os resultados dos testes. Ao utilizar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras), consulte as instruções do fabricante dos tubos.

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio. Não utilize amostras inactivadas por calor. Não utilize amostras e controlos estabilizados com azida.

Antes da determinação, certifique-se de que as amostras dos pacientes, os calibradores e os controlos estão à temperatura ambiente (20-25°C).

Devido a possíveis efeitos de evaporação, as amostras, os calibradores e os controlos colocados no analisador deverão ser analisados no prazo de duas horas.

### Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".



# Testosterone

Testosterona

cobas

## Materiais necessários (mas não fornecidos)

- Ref. 03005658, Elecsys Testosterone CalSet II, para 4 x 1 ml
- Ref. 11731416, Elecsys PreciControl Universal, para 2 x 3 ml cada de PreciControl Universal 1 e 2
- Equipamento normal de laboratório
- Analisadores Elecsys 1010/2010 ou MODULAR ANALYTICS E170

Acessórios para os analisadores Elecsys 1010 e 2010:

- Ref. 11662988, Elecsys ProCell, 6 x 380 ml de tampão do sistema
- Ref. 11662970, Elecsys CleanCell, 6 x 380 ml de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 11930346, Elecsys SysWash, 1 x 500 ml de aditivo para água de lavagem
- Ref. 11933159, Adaptador para SysClean
- Ref. 11706829, Elecsys 1010 AssayCup, 12 x 32 cuvetes de reacção ou Ref. 11706802, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 de cuvetes de reacção
- Ref. 11706799, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 pontas de pipeta

Acessórios para o analisador MODULAR ANALYTICS E170:

- Ref. 12135019, ProCell M, 1 x 2 l de tampão do sistema
- Ref. 12135027, CleanCell M, 1 x 2 l de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 03023141, PC/CC-Cups, 50 cuvetes para pré-aquecimento do ProCell M e do CleanCell M antes de usar
- Ref. 03005712, ProbeWash M, 12 x 70 ml de solução de limpeza para finalização da análise e lavagem durante a mudança de reagentes
- Ref. 03004899, PreClean M, 5 x 600 ml de solução de limpeza de detecção
- Ref. 12102137, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 tabuleiros x 84 cuvetes de reacção ou pontas de pipeta, sacos para lixo
- Ref. 03023150, Wasteliner, sacos para lixo
- Ref. 03027651, SysClean Adapter M

Acessórios para todos os analisadores:

- Ref. 11298500, Elecsys SysClean, 5 x 100 ml de solução de limpeza do sistema

Apenas disponível nos EUA:

- Ref. 11776860 Elecsys Testosterone CalCheck, 3 intervalos de concentração

## Realização do ensaio

Para assegurar a correcta execução do ensaio, é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter informações mais específicas sobre o ensaio feito no analisador.

A ressuspensão das micropartículas é efectuada automaticamente antes de usar. Introduza os parâmetros específicos do teste através dos códigos de barras dos reagentes. Se, em algum caso excepcional, não for possível ler o código de barras, o código numérico de 15 dígitos deverá ser introduzido manualmente.

**Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010:** Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20°C e coloque-os no disco dos reagentes (20°C) do analisador. Evite a formação de espuma. O sistema regula **automaticamente** a temperatura dos reagentes e a abertura/fecho dos frascos.

**Analisador Elecsys 1010:** Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20-25°C e coloque-os no disco dos reagentes/amostras do analisador (temperatura ambiente a 20-25°C). Evite a formação de espuma. **Abra** as tampas dos frascos **manualmente** antes de usar e **feche manualmente** depois de usar. Conserve a 2-8°C depois de usar.

## Calibração

Rastreabilidade: Este método foi padronizado utilizando o ID-GC/MS ("Isotope Dilution Gas Chromato-graphy Mass Spectrometry").<sup>6</sup>

Cada dispositivo de reagentes do teste Elecsys Testosterone contém um código de barras com informações específicas para a calibração do lote de reagentes em questão. A curva principal previamente definida é adaptada ao analisador através do dispositivo Elecsys Testosterone CalSet II.

**Frequência das calibrações:** Uma calibração por lote de reagentes utilizando reagente recém-colocado (i.e., dentro de um máximo de 24 horas após ter sido registado no analisador). Devem ser feitas as seguintes recalibrações:

**Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010:**

- passado 1 mês (28 dias) quando se utiliza o mesmo lote de reagentes
- passados 7 dias (quando se utiliza o mesmo dispositivo de reagentes no analisador)

**Analisadores Elecsys 1010:**

- com cada dispositivo de reagentes
- passados 7 dias (temperatura ambiente de 20-25°C)
- passados 3 dias (temperatura ambiente de 25-32°C)

**Para todos os analisadores:**

- conforme necessário: p. ex., em resultados de ensaios de controlo de qualidade fora dos limites especificados.

## Controlo de qualidade

Para o controlo de qualidade, utilize o Elecsys PreciControl Universal 1 e 2. Adicionalmente pode ser utilizado outro material de controlo adequado. Efectue os controlos dos diversos intervalos de concentração como determinações simples, pelo menos uma vez em cada 24 horas, quando o teste estiver a ser utilizado, uma vez por dispositivo de reagentes e a seguir a cada calibração. Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos. Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.

## Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração de analito de cada amostra (em nmol/l, ng/ml ou ng/dl).

Factores de conversão: nmol/l x 0,288 = ng/ml  
ng/ml x 3,47 = nmol/l  
ng/ml x 100 = ng/dl

## Limitações – interferências

O ensaio não é afectado pela icterícia (bilirrubina < 513 µmol/l ou < 30 mg/dl), hemólise (Hb < 1,1 mmol/l ou < 1,8 g/dl), lipemia (triglicéridos < 22,8 mmol/l ou < 2.000 mg/dl) e biotina < 123 nmol/l ou < 30 ng/ml.

Critério: recuperação dentro de ± 10% do valor inicial.

Nos doentes em tratamento com doses elevadas de biotina (i.e.

> 5 mg/dia), as amostras só deverão ser colhidas no mínimo 8 horas após a última administração de biotina.

Foram efectuados testes in vitro com 17 fármacos frequentemente utilizados. Não se encontrou qualquer interferência com o ensaio.

Em casos isolados, foram observados níveis elevados de testosterona em amostras de pacientes do sexo feminino sujeitas a diálise com idade superior a 70 anos.

O risco potencial de interferência por interações imunológicas entre os componentes do teste e soros raros foi minimizado através da inclusão de aditivos adequados.

Em casos isolados, podem ocorrer interferências devido a títulos extremamente elevados de anticorpos para o ruténio.

O teste contém aditivos que minimizam estes efeitos.

Em casos isolados, podem ocorrer interferências devido a títulos extremamente elevados de anticorpos para a estreptavidina.

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do paciente, o exame clínico e outros resultados.

## Intervalo de medição

0,069-52,00 nmol/l ou 0,020-15,00 ng/ml (definido pelo limite de detecção inferior e pelo máximo da curva principal). Os valores inferiores ao limite de detecção são indicados como < 0,069 nmol/l ou < 0,020 ng/ml e os valores acima do intervalo de medição como > 52,00 nmol/l ou > 15,00 ng/ml.

## Diluição

Devido à grande amplitude do intervalo de medição, a diluição é pouco provável. Se necessário, as amostras com concentrações de testosterona acima do intervalo de medição podem ser diluídas utilizando soro humano com um teor baixo de analito. A diluição recomendada é de 1:5. A concentração das amostras diluídas deve ser > 10 nmol/l (> 3 ng/ml).



# Testosterone

Testosterona

cobas

## Valores teóricos

O quadro apresenta os resultados obtidos com o teste Elecsys Testosterone durante o estudo multicêntrico para hormonas da fertilidade de Março de 1997.

Indivíduos analisados	N	Percentis			
		50°		5-95°	
		nmol/l		ng/ml	
Homens	132	17,5	9,9-27,8	5,0	2,8-8,0
Mulheres	956	1,2	0,22-2,9	0,35	0,06-0,82
Meninos					
• < 1 ano	22	0,42	0,42-0,72	0,12	0,12-0,21
• 1-6 anos	29	0,42	0,10-1,12	0,12	0,03-0,32
• 7-12 anos	31	0,63	0,10-2,37	0,18	0,03-0,68
• 13-17 anos	16	12,6	0,98-38,5	3,6	0,28-11,1

Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores teóricos para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

## Dados específicos sobre o desempenho

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho nos analisadores. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

## Precisão

A reprodutibilidade foi determinada com reagentes Elecsys, uma pool de soros humanos e controlos de acordo com um protocolo modificado (EP5-A) do NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards): 6 vezes por dia durante 10 dias (n = 60), precisão intra-ensaio no analisador MODULAR ANALYTICS E170, n = 21. Obtiveram-se os seguintes resultados:

Elecsys 1010/2010	Precisão intra-ensaio					Precisão total		
	Média		DP		CV	DP		CV
Amostra	nmol/l	ng/ml	nmol/l	ng/ml	%	nmol/l	ng/ml	%
SH <sup>b</sup> 1	0,85	0,24	0,038	0,011	4,6	0,062	0,018	7,4
SH 2	9,55	2,75	0,132	0,038	1,4	0,212	0,061	2,2
SH 3	24,3	7,01	0,267	0,077	1,1	0,409	0,118	1,7
PC U <sup>c</sup> 1	21,5	6,20	0,201	0,058	0,9	0,337	0,097	1,6
PC U2	6,75	1,95	0,115	0,033	1,7	0,174	0,050	2,6

b) SH = soro humano

c) PC U = PreciControl Universal

MODULAR ANALYTICS E170										
Amostra	Precisão intra-ensaio					Precisão total				
	Média		DP		CV	Média		DP		CV
	nmol/l	ng/ml	nmol/l	ng/ml	%	nmol/l	ng/ml	nmol/l	ng/ml	%
SH 1	1,91	0,55	0,05	0,01	2,7	1,67	0,48	0,09	0,03	5,6
SH 2	20,4	5,89	0,42	0,12	2,1	18,8	5,43	0,48	0,14	2,5
SH 3	30,6	8,81	0,54	0,16	1,8	28,2	8,14	0,79	0,23	2,8
PC U1	23,3	6,72	0,31	0,09	1,3	21,6	6,22	0,92	0,26	4,3
PC U2	12,0	3,45	0,17	0,05	1,5	10,6	3,06	0,62	0,18	6,0

## Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)

0,069 nmol/l (0,02 ng/ml)

O limite de detecção representa o nível de analito mais baixo mensurável passível de ser distinguido de zero. É calculado como o valor situado dois desvios padrão (DP) acima do padrão mais baixo (calibrador principal, padrão 1 + 2 DP, precisão intra-ensaio, n = 21).

## Comparação dos métodos

Uma comparação do teste Elecsys Testosterone (y) com um teste RIA da testosterona à venda no mercado (x), utilizando amostras clínicas, teve como resultado as seguintes correlações (ng/ml):

Número de amostras medidas: 71

Passing/Bablok<sup>7</sup>

y = 1,02x - 0,11

τ = 0,859

DP (md68) = 0,349

Regressão linear

y = 0,96x + 0,05

r = 0,963

Sy.x = 0,459

As concentrações das amostras variaram entre aprox. 0,7 e 44 nmol/l (aprox. 0,2 e 12,7 ng/ml).

## Especificidade analítica

Para o derivado de anticorpo utilizado, observaram-se as seguintes reacções cruzadas (em %):

Androstendiona	0,91
Danazol	n.d. <sup>d</sup>
DHEA-S	0,01
D-5-Androsteno-3β,17β-diol	0,30
Estradiol	n.d.
Etisterona	0,02
Norgestrel	n.d.
Propionato de testosterona	0,30
5-α-Androstano-3β,17β-diol	0,51
5-α-Dihidrotestosterona	1,89
11-β-Hidroxitestosterona	8,34
11-Ceto-testosterona	10,4

d) n.d. = não detectável

## Sensibilidade funcional

0,42 nmol/l (0,12 ng/ml)

A sensibilidade funcional é a concentração de analito mais baixa que pode ser medida de modo reprodutível com um coeficiente de variação inter-ensaio ≤ 20%.

## Bibliografia

- Runnebaum B, Rabe T. Gynäkologische Endokrinologie und Fortpflanzungsmedizin Springer Verlag 1994; Band 1:36-38,70,116 Band 1:39-40, 520-521, 593-594, 422-423. ISBN 3-540-57345-3, ISBN 3-540-57347-x.
- Nieschling E, Behre HM. Testosteron Action, Deficiency, Substitution. Springer Verlag 1990. ISBN 3-540-52763-x, ISBN 3-387-52760-x.
- Juhl UM, Rippegather G, Weller J, Zawta B. Important Facts on Reproduction Medicine/Fertility Diagnosis, Questions and Answers. 1994; Boehringer Mannheim, Cat. No. 1322958.
- Wheeler MJ. The determination of bio-available testosterone. Ann Clin Biochem 1995;32:345-357.
- Tietz NW. Clinical Guide To Laboratory Tests. 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co, 1995:578.
- Thienpont L, Verhseghe PG, Van Brussel KA, De Leenheer AP. Estradiol-17-β Quantified in Serum by Isotope Dilution-Gas Chromatography-Mass Spectrometry. ClinChem 1988(34);10:2066-2069.
- Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

## NOTA PARA O COMPRADOR: LIMITED LICENSE

A aquisição deste produto permite que o comprador o utilize exclusivamente para diagnóstico in vitro humano pela tecnologia ECL. Nenhuma patente geral ou outra licença de qualquer tipo, à excepção deste direito específico de uso de compra, é concedida por este meio. Este produto não pode ser usado pelo comprador na pesquisa/desenvolvimento em ciências da vida, em testes de auto-diagnóstico, na identificação/desenvolvimento de drogas ou em qualquer utilização ou teste veterinário, alimentar, de água ou ambiental.

Para mais informações, consulte o manual do operador adequado ao analisador, as folhas de aplicação respectivas, a informação do produto e os folhetos informativos de todos os componentes necessários.

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem. As alterações dos parâmetros de teste do código de barras do reagente que já foram introduzidas devem ser editadas manualmente.

©2005 Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

