

TESTO

Testosterone (CLIA)

Uso previsto

Inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) para la determinación cuantitativa de testosterona (TESTO) en suero o plasma

Significación clínica

En los hombres, los testículos secretan testosterona, que se regula mediante la hormona luteinizante o lutropina (LH). Es el principal andrógeno relevante para el desarrollo de caracteres sexuales secundarios en hombres. La aromatasa puede transformar la testosterona en 17-β-estradiol. En las mujeres, la testosterona se genera en los ovarios, glándulas suprarrenales y tejidos adiposos periféricos. Según las estadísticas, la cantidad de testosterona en hombres adultos es veinte veces superior a la de mujeres adultas.

La mayor parte de la testosterona circulante se fija a la globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG), parte se fija a la albúmina y parte es libre. Un nivel anormalmente bajo de la testosterona total en hombres ayuda al diagnóstico de hipogonadismo, disfunción de la hipófisis, niveles elevados de prolactina e insuficiencia renal, cirrosis hepática y aberraciones cromosómicas (síndrome de Klinefelter).

Puede encontrarse un nivel total de testosterona más elevado en hombres con tumor suprarrenal, hiperplasia suprarrenal y tumor testicular. En mujeres, puede indicar la presencia del síndrome de ovarios poliquísticos (SOP), hiperplasia de estroma, tumor de ovarios, tumor suprarrenal e hiperplasia suprarrenal.

La testosterona es fundamental para la salud de hombres y mujeres: mejora la sexualidad, fortaleza y función inmunitaria e inhibe la osteoporosis.

Fundamentos del método

Testosterone (CLIA) es un inmunoensayo competitivo para la determinación de testosterona en suero o plasma.

En el primer paso se agregan a la cubeta de reacción: la muestra, el buffer de tratamiento de muestra, las micropartículas paramagnéticas cubiertas con anticuerpo anti-testosterona y conjugado testosterona-fosfatasa alcalina. Luego de la incubación, la testosterona endógena es liberada de la muestra por efecto del buffer de tratamiento de muestra y compite con el conjugado testosterona-fosfatasa alcalina por la fijación al anticuerpo anti-testosterona. Las micropartículas son capturadas magnéticamente y las sustancias no fijadas son removidas por lavado.

En el segundo paso se agrega el sustrato

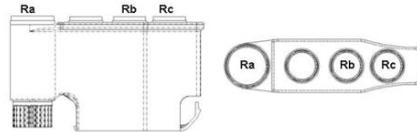
(Substrate Solution) a la cubeta de reacción.

La reacción quimioluminiscente producida por el conjugado se mide como unidades relativas de luz (RLU). La cantidad de testosterona presente en la muestra es inversamente proporcional a las unidades de luz relativa (RLU) generadas durante

la reacción. La concentración de testosterona se puede determinar mediante una curva de calibración.

Reactivos provistos

Ra	Micropartículas paramagnéticas recubiertas de anticuerpo monoclonal anti-testosterona en buffer TRIS.
Rb	Conjugado de testosterona y fosfatasa alcalina en buffer TRIS.
Rc	Buffer de tratamiento de muestra



La posición de los componentes del kit se muestra en la siguiente figura:

Reactivos no provistos

- Testosterone Calibrators
- Reproductive Multi Control (L)
- Reproductive Multi Control (H)
- Wash Buffer
- Substrate Solution

Estos reactivos son provistos separadamente por Wiener lab.

Instrucciones para su uso

Los reactivos son listos para usar

Precauciones

- Para uso diagnóstico "in vitro".
- Mantener el kit de reactivos en posición vertical para asegurar que no se pierdan micropartículas antes del uso.
- No utilizar reactivos de otro origen.
- No utilizar reactivos después de la fecha de vencimiento.
- No intercambiar reactivos de distintos lotes.
- Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.
- Utilizar los reactivos respetando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio bioquímico.
- Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

El kit es estable a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Material requerido (no provisto)

Analizador de quimioluminiscencia Wiener lab. CLIA series

Muestra

Suero o plasma

a) Recolección: obtener la muestra de la manera habitual.

b) Aditivos: en caso de utilizar plasma, se recomienda el uso de EDTA o heparina como anticoagulantes.

c) Centrifugar las muestras y separar el suero o plasma antes de las dos horas.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: las muestras deben ser preferentemente frescas. Si no se procesan dentro de las 8 horas posteriores a la recolección, deben conservarse bien tapadas y refrigeradas a 2-8°C. Si el ensayo se posterga por más de 72 horas, las muestras deben ser congeladas a -20°C o menos. Evitar los ciclos de congelado y descongelado.

Procedimiento

Antes de cargar los reactivos en el analizador se debe invertir suavemente el frasco de reactivos sin abrir por lo menos 30 veces para resuspender las micropartículas sedimentadas durante el almacenamiento. Realizar una inspección visual del frasco para asegurar la resuspensión de las micropartículas. Si las mismas continúan adheridas al frasco, seguir invirtiéndolo hasta su resuspensión completa. Si aún así las micropartículas no se resuspenden, se recomienda desechar el frasco.

El ensayo requiere 20 µL de muestra. En este volumen no se incluye el volumen muerto del contenedor de muestras.

Calibración

El kit **Testosterone (CLIA)** ha sido estandarizado de acuerdo al procedimiento de medición de referencia de IDMS (Isotope Dilution Mass Spectrometry).

La información específica de la curva maestra de calibración está contenida en el código bidimensional provisto. Se utiliza junto con los calibradores para la calibración del lote de reactivo específico. Al realizar la calibración, se debe escanear primero la información de la curva maestra de calibración del código bidimensional en el sistema. A continuación, utilizar los calibradores a tres niveles. Se requiere una curva de calibración válida antes de cualquier prueba de TESTO. Se recomienda una recalibración cada 4 semanas, cuando se utilice un nuevo lote de reactivos o los controles de calidad no se encuentren dentro de los intervalos especificados. Para obtener información detallada sobre la calibración, consulte el manual de funcionamiento del analizador.

Control de calidad Reproductive Multi Control (L) y Reproductive Multi Control (H) de Wiener lab.

Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de analito de cada muestra a partir de la curva maestra de calibración leída del código bidimensional y un ajuste de la curva logística de 4 parámetros (4PLC) con las RLU generadas por los 3 niveles de calibradores. Los resultados se muestran

en ng/mL.

Factores de conversión:

ng/mL x 3,47 = nmol/L

nmol/L x 0,288 = ng/mL

Valores esperados

Un estudio realizado sobre una población de 334 personas sanas determinó el siguiente intervalo de referencia.

Categoría	N	Intervalo central del 95%
Hombres	130	2,27-9,76 ng/mL
Mujeres	204	≤1,23 ng/mL

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

Limitaciones del procedimiento

El límite superior del ensayo es de 16 ng/mL. Se puede determinar cuantitativamente una muestra con una concentración de TESTO inferior al límite superior, pero una muestra con una concentración mayor que el límite superior se informará como >16 ng/mL.

La concentración de TESTO en una muestra ensayada con distintos kits comerciales, puede variar debido a diferencias en los métodos de ensayo, calibración y especificidad de los reactivos. Los resultados del ensayo se deben utilizar junto con otros datos, como síntomas, resultados de otras pruebas, historia clínica, etc.

Muestras de individuos expuestos a anticuerpos monoclonales de ratón pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Estas muestras pueden mostrar valores falsamente elevados o bajos con kits que utilicen anticuerpos de ratones monoclonales. Sin embargo, no se observaron interferencias evidentes de HAMA en este ensayo.

Performance

a) Sensibilidad analítica: ≤0,1 ng/mL.

b) Rango de medición: 0,1- 16,0 ng/mL.

c) Especificidad:

- No se observan interferencias por hemoglobina hasta 200 mg/dL, bilirrubina hasta 10 mg/dL, triglicéridos hasta 1800 mg/dL, factor reumatoide hasta 400 UI/mL ni anticuerpo antinuclear hasta 1000 UI/L.

- El calibrador C0 de **Testosterone Calibrators** de Wiener lab. se complementó con otras hormonas indicadas en la tabla siguiente. No se observó reactividad cruzada evidente.

Sustancia	Concentración (ng/mL)	Reactividad cruzada
Dehidroepiandrosterona	100,000	0,02%
Androsterona	1000	0,04%
Acetato de hidrocortisona	1000	0,01%
Estradiol	1000	0,00%

Estrona	1000	0,01%
Progesterona	1000	0,01%
17- α -metiltestosterona	100	0,01%
5- α -dihidrotestosterona	100	2,04%
Danazol	100	0,10%
Dexametasona	1000	0,00%
Noretindrona	5	0,60%
5-androstenediona	500	3,08%
Etiniltestosterona	50	0,10%
Cortisona	1000	0,01%

d) Exactitud:

Se usaron dos controles con valores trazables y predefinidos para verificar la exactitud de este ensayo. Los resultados demostraron que las desviaciones relativas eran inferiores a $\pm 10\%$. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Muestra	TESTO medida (ng/mL)	TESTO definida (ng/mL)	Desvío relativo
Nivel 1	1,37	1,33	3,26%
Nivel 2	8,48	8,68	-2,30%

e) Precisión:

La precisión se determinó mediante el protocolo EP5-A2 del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS). Se probaron dos niveles de controles de calidad por duplicado en dos series independientes por día, durante un total de 20 días.

Muestra	Valor medio (ng/mL)	CV Intra-ensayo	CV Inter-ensayo	CV total
1	2,12	5,81%	4,21%	6,37%
2	8,09	4,00%	3,65%	5,73%

f) Linealidad: la reacción es lineal entre 0,1 y 16 ng/mL.

g) Correlación:

El kit **Testosterona (CLIA)** de Wiener lab. se comparó con un kit comercial de características similares, utilizando 440 muestras. Los datos estadísticos obtenidos se muestran en la siguiente tabla.

Intervalo de concentración (ng/mL)	Pendiente	Intersección	Coefficiente de correlación
0.1~16	1.3542	-0.1065	0.993

Presentaciones

- 2 x 50 tests (cód. 1001142)
- 2 x 100 tests (cód. 1001143)

Referencias

- Brutis, CA, Ashwood, ER(Eds). Tietz fundamentos of clinical chemistry. 4th Edition W.B. Saunders, Philadelphia, Pennsylvania 19106, 1996, page 671-672.
- Nieschling E, Behre HM. Testosterone action,

deficiency, substitution. Springer Verlag 1990. ISBN 3-540-52763-x, ISBN 3-387-52760-x.

- Cowan BD, and Seifer DB(Eds). Clinical reproductive medicine. Lippincott-Raven, Philadelphia, Pennsylvania, 19106, page 98-100.

- Juhl UM, Rippegather G, Weller J, Zawta B. Important facts on reproduction medicine/fertility diagnosis, questions and answers. 1994. Boehringer Mannheim, Best.-Nr. 1322958.

- Wheeler MJ. The determination of bio-available testosterone. Ann Clin Biochem 1995; 32:345-357.

SÍMBOLOS

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Elaborado por

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Consultar instrucciones de uso

 Este lado arriba

 Límite de temperatura (conservar a)

 Número de lote

 Fecha de caducidad

 Número de catálogo

 Riesgo biológico

 Contenido

 SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.
Mindray building. Keji 12th Road South. Hi-tech Industrial Park.

Fabricado para:
Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com>
Producto Autorizado por A.N.M.A.T.
PM-1102-140
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica