

11776061

100 tests

Domaine d'utilisation

Test immunologique pour la détermination quantitative *in vitro* de la testostérone dans le sérum et le plasma.

Ce test par électrochimiluminescence "ECLIA" est adapté aux dosages immunologiques sur les analyseurs Elecys 1010/2010 et MODULAR ANALYTICS E170 (module Elecys) de Roche.

Tous les appareils ne sont pas disponibles dans tous les pays

Généralités*¹⁻⁴

La testostérone (17 β -hydroxyandrosténone) est un androgène d'un poids moléculaire de 288 daltons. Elle est, chez l'homme, essentiellement synthétisée dans les cellules interstitielles de Leydig. La régulation de la sécrétion de la testostérone est stimulée par l'hormone lutéinisante hypophysaire (LH) et soumise à une rétroaction négative au niveau des sites hypothalamiques et hypophysaires. La testostérone est responsable du développement des caractères sexuels secondaires mâles, et maintient les fonctions de la prostate et des vésicules séminales.

La plus grande partie de la testostérone circulante est liée dans le sang à une protéine (SHBG = Sex hormone binding globulin).

Chez la femme, de faibles quantités de testostérone sont formées dans l'ovaire. Aux concentrations physiologiques, les androgènes n'ont aucune influence spécifique. En revanche, une surproduction de testostérone peut entraîner une virilisation.

Chez la femme, le dosage de la testostérone est utile pour le diagnostic du syndrome androgénique, d'ovaires polykystiques (syndrome de Stein-Leventhal) de même qu'en cas de présomption de tumeur ovarienne, de tumeur ou d'hyperplasie des glandes surrenales ou en cas d'insuffisance ovarienne.

Chez l'homme, le dosage de la testostérone est pratiqué en cas de présomption d'une diminution de production (hypogonadisme, par ex.), de traitement aux estrogènes, d'aberration chromosomique (Syndrome de B. Klinefelter, par ex.) et de cirrhose du foie. Le coffret Testostérone Elecys fait appel à un principe de compétition utilisant un anticorps monoclonal spécifique dirigé contre la testostérone. La testostérone endogène, libérée par l'action de l'acide 8-anilino-1-naphthalène sulfonique (A.N.S.) et du norgestrel, entre en compétition avec la testostérone exogène marquée au ruthénium** pour les sites de liaison des anticorps anti-testostérone biotinylés.

** Ru(bpy)₃²⁺: Tris(2,2'-bipyridyl)-ruthénium(II)

Principe*

Principe de compétition. Durée totale du cycle analytique : 18 minutes.

- 1^{re} incubation : une prise d'essai de 50 μ l d'échantillon est incubée avec l'anticorps anti-testostérone biotinylé et le peptide (testostérone exogène) marqué au ruthénium. Les sites de liaison de l'anticorps biotinylé sont occupés en partie par la testostérone sérique (selon sa concentration) et en partie par les haptènes marqués au ruthénium pour former des immun-complexes.
- 2^{re} incubation : Les microparticules tapissées de streptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle. Les complexes immunologiques sont fixés à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine.
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell. Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.
- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Une courbe de référence est mémorisée dans le code barres du réactif et est réajustée, pour l'analyseur utilisé, par une calibration en deux points.

Réactifs - Contenu du coffret et concentrations

Coffret Testostérone Elecys, Réf. 11776061, 100 tests

M Microparticules tapissées de streptavidine, 1 flacon contenant 6,5 ml (bouchon transparent) :

microparticules tapissées de streptavidine 0,72 mg/ml, capacité de liaison: 470 ng de biotine/mg de microparticules; conservateur.

R1 Anticorps anti-testostérone-biotine, 1 flacon contenant 8 ml (bouchon gris) : Anticorps anti-testostérone monoclonal de souris marqué à la biotine 55 ng/ml, tampon phosphate 40 mmol/l, pH 7,0; conservateur.

R2 Peptide-testostérone-Ru(bpy)₃²⁺, 1 flacon contenant 8 ml (bouchon noir) : Testostérone marqué au ruthénium 3 ng/ml; A.N.S./Norgestrel; tampon phosphate 40 mmol/l, pH 7,0; conservateur.

Précautions d'emploi et mises en garde

Pour diagnostic *in vitro*.

Observer les précautions habituelles de manipulation en laboratoire.

L'élimination de tous les déchets doit être effectuée conformément aux dispositions légales.

Préparation des réactifs*

Les réactifs contenus dans le coffret sont prêts à l'emploi et ne peuvent être utilisés séparément. Toutes les informations nécessaires au déroulement du test sont mémorisées sur les codes barres des flacons réactifs et sont saisies automatiquement.

Conservation et stabilité*

Ranger le coffret Testostérone Elecys entre 2 et 8°C en position verticale, de manière à ce que toutes les microparticules soient rassemblées lors de l'homogénéisation qui précède l'analyse.

Stabilité :

Avant ouverture, entre 2 et 8°C : jusqu'à la date de péremption indiquée

Après ouverture, entre 2 et 8°C : douze semaines

Sur E170 et Elecys 2010 : huit semaines

Sur Elecys 1010 : quatre semaines (conservation alternée au réfrigérateur et dans l'appareil à 20-25°C, flacons ouverts au maximum 20 heures).

Prélèvement et préparation des échantillons*

Seuls les échantillons suivants ont été testés :

Sérum recueilli sur tubes standard ou contenant un gel séparateur.

Plasma : recueilli sur héparinate d'ammonium, de lithium, de sodium, EDTA tripotassique, fluorure de sodium/oxalate de potassium. Les échantillons recueillis sur citrate de sodium peuvent donner des résultats abaissés d'env. 10%.

(Critère d'acceptabilité : recouvrement 90-110% de la valeur du sérum ou pente 0,9-1,1 + coefficient de corrélation >0,95 + ordonnée à l'origine < $\pm 2 \times$ limite de détection analytique.)

Stabilité : une semaine entre 2 et 8°C, six mois à -20°C. Ne congeler qu'une fois.^{3,6}

Stabilité du sérum recueilli sur tubes à gel séparateur: 48 heures entre 2 et 8°C (selon les indications données par le fabricant des tubes).⁶

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Ne pas utiliser d'échantillons inactivés par la chaleur.

Ne pas utiliser d'échantillons ou solutions de contrôle stabilisés par de l'azide.

S'assurer avant l'analyse que la température des échantillons, des calibrateurs et des contrôles se situe à 20-25°C.

En raison des risques d'évaporation, il est recommandé de doser les échantillons, les contrôles et les calibrateurs dans les deux heures qui suivent leur mise en place sur les analyseurs.

Testostérone Elecys - Réactifs et matériel nécessaires***Contenu du coffret**

Réf. 11776061, Coffret Testostérone Elecys pour 100 tests :

- M Microparticules tapissées de streptavidine
- R1 Anticorps anti-testostérone-biotine
- R2 Peptide-testostérone-Ru(bpy)₃²⁺

Réactifs et matériel auxiliaires nécessaires

- Réf. 03005658, Testostérone CalSet II Elecys, pour 4 x 1 ml
- Réf. 11731416, PreciControl Universal Elecys :

PreciControl Universal 1 pour 2 x 3 ml et PreciControl Universal 2 pour 2 x 3 ml

• Équipement habituel de laboratoire

• Elecys 1010/2010 ou MODULAR ANALYTICS E170

Matériel auxiliaire pour Elecys 1010 et Elecys 2010 :

- Réf. 11662988, ProCell Elecys, 6 x 380 ml de tampon système
- Réf. 11662970, CleanCell Elecys, 6 x 380 ml de solution de nettoyage pour la cellule de mesure

• Réf. 11930346, SysWash Elecys, 1 x 500 ml, additif à la solution de lavage

• Réf. 11933159, Adaptateur pour SysClean

• Réf. 11706829, Assay Cup Elecys 1010, 12 x 32 cuvettes réactionnelles ou

Réf. 11706802, Assay Cup Elecys 2010, 60 x 60 cuvettes réactionnelles

• Réf. 11706799, Assay Tip Elecys 2010, 30 x 120 embouts de pipette

Matériel auxiliaire pour MODULAR ANALYTICS E170:

• Réf. 12135019, ProCell M, 1 x 2 l de tampon système

• Réf. 12135027, CleanCell M, 1 x 2 l solution de nettoyage pour la cellule de mesure

• Réf. 03023141, PC/CC-Cups, 50 godets pour la thermorégulation de ProCell M et de CleanCell M

• Réf. 03005712, Probewash M, 12 x 70 ml, solution de lavage pour la fin de la série et pour le rinçage en cas de changement de réactif

• Réf. 03004899, PreClean M, 5 x 600 ml, solution de lavage avant la détection

• Réf. 12102137, AssayCups/AssayTips Combimagazin M, 48 blocs de 84 tubes à essai/embouts de pipettes, sacs pour déchets

• Réf. 03023150, Wasteliner (sacs pour déchets)

• Réf. 03027651, SysClean Adapter M, adaptateur pour SysClean M

Pour les trois appareils:

• Réf. 11298500, SysClean Elecys, 5 x 100 ml, solution de lavage du système

Disponible uniquement aux Etats-Unis:

- Réf. 11776860, Testostérone CalCheck Elecys, à trois niveaux de concentration

Mode opératoire*

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer au mode d'emploi de l'appareil utilisé et vérifier que les réactifs, les solutions auxiliaires et les consommables nécessaires à la réalisation du test sont disponibles en quantité suffisante.

L'analyseur effectue automatiquement l'homogénéisation des microparticules. Les informations spécifiques du test mémorisées sur l'étiquette code barres doivent être saisies. Si, exceptionnellement, le code barres ne peut être lu par l'appareil, saisir manuellement la série des 15 chiffres inscrits sur l'étiquette.

E170/Elecys 2010 : porter les réactifs réfrigérés à env. 20°C avant le chargement et les placer dans le plateau réactifs de l'appareil thermostaté à 20°C. Eviter la formation de mousse. L'analyseur gère le contrôle de la température, l'ouverture et la fermeture des flacons.

Elecys 1010 : porter les réactifs réfrigérés à env. 20-25°C et les placer dans le plateau réactifs/échantillons de l'appareil (température ambiante 20-25°C). Eviter la formation de mousse. Ouvrir les flacons avant la mise en route de l'analyseur, puis les refermer et les replacer au réfrigérateur après la série de dosages.

Calibration*

Le coffret Testostérone Elecys a été calibré par rapport à la méthode DI-CG/SM (dilution isotopique couplée à la chromatographie en phase gazeuse et révélée en spectrométrie de masse).^{6,7}

Le code barres du flacon réactif contient toutes les informations spécifiques de la calibration du lot, la courbe de référence y est mémorisée. Le réajustement de la courbe pour l'appareil utilisé est effectué à l'aide des 2 solutions Testostérone CalSet II.

Fréquence de calibration: Effectuer une calibration par lot en utilisant un réactif frais (ayant été enregistré au maximum 24 heures par l'appareil).



Testosterone

Testostérone

Elecsys® 1010/2010/MODULAR ANALYTICS E170

Fréquence

Une nouvelle calibration est recommandée pour:

E170/Elecsys 2010 :

- après un mois (28 jours) pour un même lot de réactifs
- après sept jours pour un même flacon de réactif resté sur l'appareil

Elecsys 1010

- à chaque nouveau coffret

• après sept jours à une température ambiante entre 20 et 25°C

• après trois jours à une température ambiante entre 25 et 32°C

E170, Elecsys 1010 et Elecsys 2010 :

- quand elle s'avère nécessaire : par ex. si les résultats des sérum de contrôle se situent en dehors des limites de confiance.

Validation de la calibration : Le logiciel de l'appareil vérifie la validité de la courbe et affiche les anomalies.

Contrôle de qualité*

Utiliser PreciControl Universal 1 et PreciControl Universal 2 Elecsys ou d'autres sérum de contrôle appropriés.

Il est recommandé de doser les sérum de contrôle 1 et 2 en simple au moins une fois toutes les 24 heures pendant une routine, pour chaque nouveau coffret et lors d'une calibration. Cette fréquence peut varier selon les exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance.

Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats sont situés en dehors des limites de confiance définies par le fournisseur.

Expression des résultats*

E170, Elecsys 1010 et 2010 calculent automatiquement le taux de testostérone de chaque échantillon. Les résultats sont exprimés au choix en nmol/l, ng/ml ou ng/dl.

Facteurs de conversion : nmol/l x 0,288 = ng/ml (x 100 = ng/dl)
ng/ml x 3,47 = nmol/l

Limites d'utilisation - Interférences*

La bilirubine (< 300 mg/l ou 30 µmol/l), l'hémolyse (Hb < 1,8 g/dl), la lipémie (triglycérides < 20 g/l ou 2000 mg/dl), la biotine (< 30 ng/ml) n'influencent pas le résultat (critère d'acceptabilité: recouvrement ± 10% par rapport à la valeur initiale).

Chez les patients traités par de fortes doses de biotine (> 5 mg/jour), il est recommandé d'effectuer le prélèvement de l'échantillon au moins 8 heures après la dernière administration.⁶ L'influence de 17 médicaments fréquemment administrés a été recherchée *in vitro* : aucune interférence n'a été observée.

Les cas d'interactions immunologiques entre les composants du réactif et les constituants de certains sérum sont rares; ce risque est minimisé dans le test Testostérone Elecsys. Dans de rares cas, des titres extrêmement élevés d'anticorps anti-ruthénium peuvent conduire à des interférences. Le test Testostérone Elecsys contient des additifs qui minimisent ces interférences.

Dans de rares cas, des titres extrêmement élevés d'anticorps anti-streptavidine peuvent conduire à des interférences.

Pour le diagnostic, les résultats du test Testostérone Elecsys doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

Domaine de mesure*

0,069–52,00 nmol/l ou 0,020–15,00 ng/ml (défini par la limite de détection et le maximum de la courbe de référence). Les taux situés au-dessous de la limite de détection sont exprimés de la manière suivante : < 0,069 nmol/l ou 0,020 ng/ml et les taux situés au-dessus du domaine de mesure de la manière suivante : > 52,00 nmol/l ou > 15,00 ng/ml.

Dilution des échantillons

En raison de l'étendue du domaine de mesure, une dilution des échantillons est généralement inutile. Le cas échéant, les échantillons présentant une concentration > 52,00 nmol/l ou 15,00 ng/ml peuvent être dilués avec du sérum humain contenant une faible quantité d'analyte. **Dilution recommandée : 1/5.** La concentration obtenue avec l'échantillon dilué doit être > 10 nmol/l ou > 3 ng/ml.

Domaine de référence*

Le tableau suivant montre les résultats obtenus avec le test Testostérone Elecsys lors d'une étude multicentrique ("Fertility Hormones", mars 1997).

		Percentiles			
		50%	5–95%	50%	5–95%
	n	nmol/l	ng/ml		
Hommes	132	17,5	9,9–27,8	5,0	2,8–8,0
Femmes	956	1,2	0,22–2,9	0,35	0,06–0,82
Garçons					
< 1 an	22	0,42	0,42–0,72	0,12	0,12–0,21
1–6 ans	29	0,42	0,10–1,12	0,12	0,03–0,32
7–12 ans	31	0,63	0,10–2,37	0,18	0,03–0,68
13–17 ans	16	12,6	0,98–38,5	3,6	0,28–11,1

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs de référence et établir ses propres valeurs selon la population examinée.

Performances analytiques*

Précision

Les résultats indiqués ci-dessous ont été obtenus avec des analyseurs Elecsys. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

La précision a été déterminée à l'aide de pools de sérum humain et des sérum de contrôle, chaque échantillon a été analysé 6 fois par jour pendant 10 jours (n = 60) selon un protocole modifié (EP5-A) du N.C.L.S. (National Committee for Clinical Laboratory Standards); précision intra-série sur E170 : n = 21.



Echantillon	Elecsys 1010/2010		Précision intra-série		Précision inter-série	
	Échantillon	Échantillon	s	CV %	s	CV %
Sérum humain 1	0,85	0,24	0,038	4,6	0,062	7,4
Sérum humain 2	9,55	2,75	0,132	1,4	0,212	2,2
Sérum humain 3	24,3	7,01	0,267	1,1	0,409	1,7
PreciControl U 1	21,5	6,20	0,201	0,9	0,337	1,6
PreciControl U 2	6,75	1,95	0,115	1,7	0,174	2,6

Echantillon	E170			Précision intra-série			Précision inter-série		
	Échantillon	Échantillon	s	CV %	Échantillon	Échantillon	s	CV %	
Sérum humain 1	1,91	0,55	0,05	2,7	1,67	0,48	0,09	5,6	
Sérum humain 2	20,4	5,89	0,42	7,1	18,8	5,43	0,48	2,5	
Sérum humain 3	30,6	8,81	0,54	1,8	28,2	8,14	0,79	2,8	
PreciControl U 1	23,3	6,72	0,31	1,3	21,6	6,22	0,92	4,3	
PreciControl U 2	12,0	3,45	0,17	5,0	10,6	3,06	0,62	6,0	

Sensibilité (limite de détection analytique)

0,069 nmol/l ou 0,02 ng/ml

La limite de détection correspond au taux le plus faible de testostérone mesurable qui puisse être différencié de zéro. Elle représente la concentration du standard le plus faible de la courbe de référence + 2s (calibrateur de référence, standard 1 + 2s, précision intra-série n = 21).

Sensibilité fonctionnelle:

0,42 nmol/l ou 0,12 ng/ml

La sensibilité fonctionnelle est définie comme étant la concentration la plus basse donnant une précision inter-série ≤ 20%.

Spécificité analytique

L'anticorps anti-testostérone du coffret présente les réactions croisées suivantes :

D-5-androstène-3 β ,17 β -diol	0,30 %	Ethistérone	0,02 %
5- α -androstan-3 β ,17 β -diol	0,51 %	Androstenedione	0,91 %
5- α -dihydrotestostérone	1,89 %	Estradiol	n.d.
11- β -hydroxytestostérone	8,34 %	Danazol	n.d.
11-céto-testostérone	10,4 %	Norgestrel	n.d.
Propionates de testostérone	0,30 %	DHEAS	0,01 %

(n.d. = non détectable)

Comparaison de méthodes*

Une comparaison entre le test Testostérone Elecsys (y) et un test de comparaison RIA Testostérone (x) sur des sérum de patients hospitalisés a permis d'établir les corrélations suivantes (en ng/ml) :

Nombre d'échantillons analysés : 71

Passing/Bablok⁶⁻¹⁰ Régression linéaire

y = -0,11 + 1,02x y = 0,05 + 0,96x

r = 0,96 r = 0,96

s(md68) = 0,349 Sy.x = 0,459

Les concentrations en testostérone des échantillons étaient situées entre env. 0,7 et 44 nmol/l ou env. 0,2 et 12,7 ng/ml.

Bibliographie

- 1 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.
- 2 Nieschling E, Behre HM. Testosteron Action, Deficiency, Substitution. Springer Verlag 1990. ISBN 3-540-52763-x, ISBN 3-387-52760-x.
- 3 Juhl UM, Rippegåther G, Weller J, Zawta B. Important Facts on Reproduction Medicine/Fertility Diagnosis, Questions and Answers. 1994. Boehringer Mannheim, Ref. 1322958.
- 4 Wheeler MJ. The determination of bio-available testosterone. Ann Clin Biochem 1995;32:345–357.
- 5 Tietz NW. Clinical Guide To Laboratory Tests. 3^e édit. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co, 1995:578.
- 6 Documentation de Roche.
- 7 Thienpont L, Verhsege 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.
- 8 Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709–720.
- 9 Passing H, Bablok W. Comparison of Several Regression Procedures for Method Comparison Studies and Determination of Sample Sizes. J Clin Chem Clin Biochem 1984;22:431–445.
- 10 Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783–790.

* Pour de plus amples informations, se référer au manuel d'utilisation des analyseurs MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 1010 et Elecsys 2010, au dossier Information-produit Testostérone Elecsys et aux notices d'utilisation Testostérone CalSet II, PreciControl Universal et Diluent Universal.

□ = Modifications importantes. Les modifications concernant les données contenues dans le code barres doivent être entrées manuellement.

© 2001 Roche Diagnostics