

## DHEA-S

### Dehidroepiandrosterona sulfato (CLIA)

#### Informações do pedido

Número de catálogo	Tamanho de embalagem
DHEA-S111	2 x50 testes
DHEA-S112	2 x100 testes
DHEA-S113	2 x30 testes

#### Uso pretendido

O ensaio de DHEA-S da série CL é um Imunoensaio quimioluminescente (CLIA) para a determinação quantitativa de Sulfato de Dehidroepiandrosterona (S-DHEA) sérico ou plasmático humano.

#### Resumo

O Sulfato de Dehidroepiandrosterona (S-DHEA) é um esteroide sintetizado principalmente na glândula adrenal. Nos tecidos que contêm atividade de sulfatase, a DHEA-S pode ser convertida em DHEA de esteroide livre. Subsequentemente, a DHEA ou DHEA-S pode ser parcialmente metabolizada em andrógenos e estrógenos ativos<sup>1, 2</sup>.

Os níveis séricos e plasmáticos de DHEA-S são considerados os mais altos entre os esteroides. Os níveis de DHEA-S diminuem com a idade tanto em homens quanto em mulheres depois que os níveis máximos forem atingidos por volta da terceira década de vida. A meia vida de DHEA-S é de aproximadamente 8 a 10 horas, em comparação com a meia vida de 30 a 60 minutos de outros androgênios. Devido à sua alta concentração e baixa variação diurna, a DHEA-S é um marcador prático para avaliação da produção adrenal<sup>1</sup>.

A DHEA-S pode ser usada no diagnóstico diferencial da síndrome de Cushing<sup>3</sup>. A DHEA-S também pode ser usada para avaliar doenças adrenocórticas, como hiperplasia adrenal congênita e tumores adrenais. Nas pacientes com hirsutismo, níveis maiores de DHEA-S foram associados à virilização de tumores adrenais. Pacientes com síndrome de ovários policísticos frequentemente demonstraram níveis elevados de DHEA-S, sugerindo uma contribuição de androgênio adrenal para o defeito nesse distúrbio<sup>4,5,6</sup>.

#### Princípio de ensaio

O ensaio de DHEA-S da série CL é um ensaio imunoenzimático de ligação competitiva para determinar o nível de DHEA-S.

Na primeira etapa, amostragem, micropartículas paramagnéticas revestidas com IgG de anticorpos de cabras e coelhos e anticorpo anti-DHEA-S policlonal (coelhos), fosfatase alcalina DHEA-S conjugada foram adicionadas a uma cubeta de reação. Após a incubação, a DHEA-S na amostra compete com o conjugado de DHEA-S-fosfatase alcalina por lugares de ligação no anticorpo anti-DHEA-S. O antígeno resultante: complexos de anticorpo são ligados à IgG de anticorpos de coelhos e cabras nas micropartículas, que é capturada magneticamente, enquanto outras substâncias não vinculadas são removidas por lavagem.

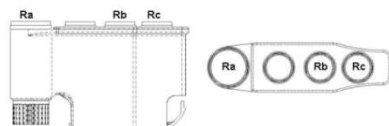
Na segunda etapa, a solução do substrato é adicionada à cubeta de reação. Ela é catalisada pelo conjugado de DHEA-S-fosfatase alcalina no imunocomplexo retido nas micropartículas. A reação de quimioluminescência resultante é medida como unidades de luz relativas (RLUs) por um fotomultiplicador integrado no sistema. A quantidade de DHEA-S presente na amostra é inversamente proporcional nas unidades de luz relativas (RLUs) geradas durante a

reação. A concentração de DHEA-S pode ser determinada via uma curva de calibração.

#### Componentes reagentes

Ra	Micropartículas paramagnéticas revestidas com IgG de anticorpos de coelhos e cabras no tampão TRIS com conservante.
Rb	Conjugado de DHEA-S-fosfatase alcalina no tampão MES com conservante.
Rc	Anticorpo anti-DHEA-S policlonal (coelhos) no tampão TRIS com conservante.

A posição de cada componente reagente é mostrada na figura abaixo (vista frontal à esquerda e vista superior à direita):



#### Armazenamento e estabilidade

O kit de reagente de DHEA-S (CLIA) não aberto é estável até a data de expiração indicada quando armazenado a 2-8°C. O kit de reagente de DHEA-S (CLIA) pode ser armazenado onboard e usado por um máximo de 28 dias após a abertura em 2-8°C.

#### Preparação do reagente

Ra: Pronto para usar.

Rb: Pronto para usar.

Rc: Pronto para usar.

#### Materiais necessários, mas não fornecidos

Analizador de Imunoensaio Quimioluminescente da série CL da Mindray.

Nº Cat. DHEA-S211/DHEA-S212: Calibradores de DHEA-S, 1x2,0 mL/1x1,0 mL para cada calibrador C0, C1 e C2.

Cat.No.IML311: Imunoensaio multiconrole (L), 3x2,0 mL.

Cat.No.IMH311: Imunoensaio multiconrole (H), 3x2,0 mL.

Cat.No.IML312: Imunoensaio multiconrole (L), 6x2,0 mL.

Cat.No.IMH312: Imunoensaio multiconrole (H), 6x2,0 mL.

Cat.No.WB411: Tampão de lavagem, 1x10 L.

Cat.No.CS511: Solução de substrato, 4x115 mL.

Cubeta de reação.

#### Instrumentos aplicáveis

Analizador de Imunoensaio Quimioluminescente da série CL da Mindray

#### Coleta e preparação do espécime

Espécimes de soro e plasma humanos coletados em EDTA, heparina sódica e heparina de lítio são recomendáveis para este ensaio.

Colete todas as amostras de sangue seguindo precauções de rotina para punção venosa. Siga as recomendações de centrifugação do fabricante do tubo de coleta de sangue. Centrifugue as amostras após a conclusão da formação de coágulos. Algumas amostras, principalmente aqueles de pacientes que recebem terapia anticoagulante podem apresentar maior tempo de coagulação. Certifique-se de que a fibrina residual e a matéria celular sejam removidas antes da análise.

Para obter resultados ideais, veja se há bolhas em todas as amostras. Remova as bolhas com a ponta de uma pipeta antes da análise. As amostras devem ser completamente misturadas após descongelamento. Amostras

descongeladas devem ser centrifugadas antes do uso. Se a amostra estiver coberta com uma camada lipídica após a centrifugação, essa amostra deverá ser transferida para um tubo limpo antes do teste. Não transfira a camada lipídica. Manuseie com cuidado para evitar a contaminação cruzada. Não use amostras grosseiramente hemolizadas. Não use amostras inativadas por calor.

As amostras devem ser testadas assim que possível, após a coleta da amostra. Se a testagem não for realizada em 8 horas, as amostras deverão ser armazenadas a 2-8°C ou em temperatura mais fria. As amostras devem ficar estáveis por 2 dias a 2-8°C, 2 meses a -20°C. Evite mais de três ciclos de congelamento.

#### Procedimento do ensaio

Para obter o procedimento de ensaio ideal, os operadores devem ler o manual de operação do sistema relacionado com atenção, para obter informações suficientes, como instruções de operação, preservação e administração da amostra, precauções de segurança e manutenção. Prepare todos os materiais necessários para o ensaio também.

Antes de carregar o kit de reagente de DHEA-S (CLIA) na máquina pela primeira vez, o frasco fechado do reagente deve ser invertido suavemente por pelo menos 30 vezes para ressuspensão das micropartículas que se acomodaram durante a remessa ou armazenamento. Inspeção visualmente o frasco para assegurar que as micropartículas estão em suspensão de novo. Se as micropartículas permanecerem coladas no frasco, continue invertendo até que elas sejam totalmente ressuspensas. Se não for possível colocar as micropartículas em suspensão de novo, é recomendável não usar esse frasco de reagente. Entre em contato com o Serviço de Atendimento da Mindray para obter ajuda. Não inverta o frasco do reagente aberto.

Este ensaio requer 10 µL de amostra para um único teste. Esse volume não inclui o volume morto do contêiner da amostra. Um volume adicional é necessário ao realizar mais testes da mesma amostra. Os operadores devem consultar o manual de operação do sistema e o requisito específico do ensaio para determinar o volume mínimo da amostra.

#### Calibração

A DHEA-S (CLIA) da série CL foi padronizada em relação a um teste de DHEA-S comercial (CLIA).

As informações específicas do kit de reagente da curva de calibração principal de DHEA-S (CLIA) são armazenadas no código de barras bidimensional colado no pacote do reagente. Ele é usado em combinação com os calibradores de DHEA-S para a calibração do lote do reagente específico. Ao realizar a calibração, verifique as informações da curva de calibração principal do código de barras no sistema primeiro, e depois use os calibradores de DHEA-S em três níveis. A curva de calibração válida é necessária antes de qualquer teste de DHEA-S. A recalibração é recomendável a cada 4 semanas ou quando um novo lote de reagente é usado, ou os controles de qualidade estão fora do intervalo especificado. Para obter instruções detalhadas de calibração, consulte o manual de operação do sistema.

#### Controle de qualidade

Recomenda-se que os controles de qualidade sejam executados uma vez a cada 24 horas, se os testes estiverem em uso, ou após cada calibração. A frequência de controle de qualidade deve ser adaptada às necessidades individuais de cada laboratório. Os dois níveis recomendados de controles de qualidade para este ensaio são Imunoensaio multiconrole (L) e Imunoensaio multiconrole (H).

Os resultados do controle de qualidade devem estar dentro dos intervalos aceitáveis. Se um controle estiver fora do intervalo especificado, os resultados do teste associado serão inválidos e as amostras precisarão ser retestadas. Talvez seja necessário recalibrar. Examine o sistema do ensaio consultando o manual operacional do sistema. Se os resultados do controle de qualidade ainda estiverem fora do intervalo especificado, entre em contato com o Serviço de Atendimento da Mindray para obter ajuda.

#### Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração de analito de cada amostra na leitura da curva de calibração principal do código de barras, e um Ajuste da curva logística de 4 parâmetros (4PLC) com as unidades de luz relativas (RLUs) geradas dos calibradores de DHEA-S dos valores de concentração definidos. Os resultados são mostrados na unidade de µg/dL.

Fator de conversão: µg/dL x 0,02714 = µmol/L.

#### Valores esperados

Um estudo em um coorte de 1230 indivíduos saudáveis cobrindo um total de 513 amostras femininas, um total de 491 amostras masculinas e um total de 226 amostras de crianças, determinou o intervalo de referência do ensaio de DHEA-S da série CL.

Categoria	Número de amostras	DHEA-S (µg/dL)	
		5º percentil	95º percentil
Mulheres	10-14 anos	128	286
	15-19 anos	131	360
	20-24 anos	125	400
	25-34 anos	128	350
	35-44 anos	130	330
	45-54 anos	124	250
	55-64 anos	121	200
	65-74 anos	130	250
	≥75 anos	135	160
	Homens	10-14 anos	125
15-19 anos		137	486
20-24 anos		126	498
25-34 anos		137	452
35-44 anos		140	440
45-54 anos		138	336
55-64 anos		136	300
Crianças	65-74 anos	123	250
	≥75 anos	131	120
	<1 semana	128	620

1-4 semanas	136	30	440
1-12 semanas	125	5	132
1-4 anos	135	0	20
5-9 anos	124	3	90

Devido à variação de dados geográficos, raça, gênero e idade, é altamente recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

#### Limitações

O limite superior deste ensaio é de 1000 µg/dL. Um espécime com concentração de DHEA-S menor que o limite superior pode ser quantitativamente determinado, enquanto o espécime com uma concentração mais alta do que o limite superior será relatado como >1000 µg/dL.

A concentração de DHEA-S em um dado espécime, determinada com ensaios de fabricantes diferentes, pode variar devido às diferenças nos métodos do ensaio, calibração e especificidade do reagente. Os resultados do ensaio devem ser usados em conjunto com outros dados para tomar decisões clínicas, como sintomas, resultados de outros testes, histórico clínico.

Os espécimes de indivíduos que foram expostos a anticorpos monoclonais de camundongos podem conter anticorpo humano anticamundongo (HAMA) <sup>7</sup>. Esses amostras podem mostrar valores falsamente elevados ou falsamente reduzidos com kits de ensaio que empregam anticorpos monoclonais de camundongos<sup>8, 9</sup>. No entanto, nenhuma interferência óbvia de HAMA foi observada neste ensaio.

#### Características de desempenho

##### Sensibilidade analítica/Limite de detecção

O kit de reagente de DHEA-S (CLIA) tem uma sensibilidade analítica de ≤2,0 µg/dL. A sensibilidade analítica é definida como a mais baixa concentração de analito que pode ser diferenciada de uma amostra que não contém analitos. Ela é definida como a concentração de DHEA-S em dois desvios-padrão acima da média de RLU de 20 medições de uma amostra sem analito.

##### Intervalo para relatório

O intervalo para relatório é definido pela sensibilidade analítica e o limite superior da curva de calibração principal. O intervalo para relatório do kit de reagente de DHEA-S (CLIA) é 2,0-1000 µg/dL.

##### Especificidade

Hemoglobina até 1000 mg/dL, bilirrubina até 10 mg/dL, triglicérides até 2000 mg/dL e proteína total até 6 g/dL não vão interferir com o ensaio de DHEA-S da série CL. Essas substâncias mostra menos de 10% de interferências na concentração indicada.

Nenhuma interferência óbvia foi observada com o fator reumatoide (até 200 IU/mL) ou anticorpo antinuclear. O calibrador DHEA-S CO atingiu o pico com DHEA, DHEA Glucuronida, Aldosterona, Androstenediona, Androsterona, Androsterona-sulfato, Andro-glucuronida, Cortisol, 5-dihidrotestosterona, Estradiol, β-Estradiol-3-sulfato-17-glicuronídeo, Estriol, Estrona, Estrona-3-Sulfato 19-Hidroxiandrostenediona, Progesterona, Testosterona em níveis específicos indicados na tabela abaixo. Nenhuma reatividade cruzada óbvia foi observada, pois todos os resultados foram ≤1%. Os resultados estão resumidos na tabela abaixo.

Substância	Concentração de reagente cruzado (µg/dL)	Reatividade de cruzada	Critérios de aceitação
DHEA	4000	0,25%	≤1%
DHEA glucuronídeo	5000	0,11%	
Aldosterona	5000	0,14%	
Androstenediona	1000	0,35%	
Androsterona	2000	0,15%	
Androsterona-sulfato	5000	0,12%	
Andro-glucuronídeo	5000	0,13%	
Cortisol	10000	0,16%	
5-dihidrotestosterona	5000	0,12%	
Estradiol	5000	0,15%	
β-Estradiol-3-sulfato-17-glicuronídeo	5000	0,13%	
Estriol	5000	0,16%	
Estrona	5000	0,19%	
Estrona-3-Sulfato	5000	0,18%	
19-Hidroxiandrostenediona	5000	0,19%	
Progesterona	5000	0,12%	
Testosterona	2000	0,12%	

#### Exatidão

Dois controles com valores rastreáveis e predefinidos foram usados para verificar a exatidão deste ensaio. Os resultados mostraram que os desvios relativos foram menores que ±10%. Os resultados estão resumidos na tabela abaixo.

Amostra	Valor de DHEA-S medido (µg/dL)	Valor de DHEA-S predefinido (µg/dL)	Desvio relativo
Nível 1	89,51	91,84	-2,54%
Nível 2	492,32	490,65	0,34%

#### Precisão

O ensaio de DHEA-S da série CL foi projetado para ter uma precisão de ≤10% (dentro do CV do dispositivo). A precisão foi determinada de acordo com o Comitê Nacional para Normas de Laboratórios Clínicos (NCCLS), Protocolo EP5-A2. Dois níveis de controles de qualidade foram testados em duplicata em duas execuções separadas por dia, em um total de 20 dias, usando um único lote de reagentes e uma única curva de calibração. Os dados de precisão estão resumidos na tabela abaixo.

Amostra	Média DHEA-S (µg/dL)	Dentro do CV da execução	Entre o CV da execução	Dentro do CV do dispositivo
1	90.44	6.33%	7.24%	9.62%
2	466.39	5.78%	6.39%	9.14%

#### Linearidade

Uma amostra com alta concentração de DHEA-S (aproximadamente 1000 µg/dL) foi misturada com uma amostra de concentração baixa (<2.0 µg/dL) em proporções diferentes, gerando uma série de diluições. A DHEA-S de cada diluição foi determinada com o uso do ensaio de DHEA-S da série CL da Mindray. A linearidade foi demonstrada no intervalo de 2,0 µg/dL a 1000 µg/dL, o

coeficiente de correlação  $r$  é  $\geq 0.990$ . Os dados de linearidade estão resumidos na tabela abaixo.

Concentração (µg/dL)	1	2	3	4	5	6
Esperado DHEA-S	1,56	238,41	475,26	712,11	948,96	1185,83
Medido DHEA-S	1,56	223,76	473,06	660,29	950,84	1185,83

#### Comparação de métodos

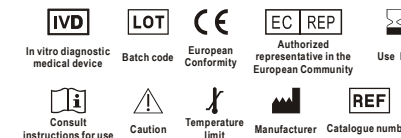
O Ensaio de DHEA-S da série CL da Mindray foi comparado com um kit de diagnóstico comercialmente disponível em um estudo de correlação com cerca de 406 amostras. Os dados estatísticos obtidos pelo modo de computação Deming são mostrados na tabela abaixo.

Intervalo de concentração (µg/dL)	Inclinação	Interceptação	Coefficiente de correlação
2,0~1000	1,0138	-1,461	0,9927

#### Avisos e precauções

- Apenas para diagnóstico in vitro.
- Siga todas as regras ao manusear reagentes de laboratório e adote as precauções de segurança necessárias.
- Devido às diferenças na metodologia e especificidade do anticorpo, os resultados de teste da mesma amostra podem ser diferentes durante o uso de kits de reagentes de fabricantes diferentes no sistema da Mindray ou com o uso de kits de reagentes da Mindray em outros sistemas.
- Não use kits de reagentes com a data de expiração vencida.
- Não use reagentes misturados de lotes diferentes.
- Sempre mantenha o pacote de reagente na posição vertical para assegurar que nenhuma micropartícula seja perdida antes do uso.
- Não é recomendado usar o pacote de reagente aberto a mais de 28 dias.
- A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida se as instruções no encarte deste pacote não forem seguidas.
- Todos os espécimes e dejetos de reação devem ser considerados potencialmente perigosos. O manuseio de amostras e dejetos de reação deve ser realizado de acordo com os regulamentos e diretrizes locais.
- A folha de dados de segurança de material (MSDS) está disponível mediante solicitação.

#### Símbolos gráficos



#### Referências

- Longcope C. Dehydroepiandrosterone metabolism. J Endocrinol 1996; 150:S125-S127.
- Nestler J, et al. Metabolism and actions of dehydroepiandrosterone in humans. J Steroid

Biochem Molec Biol 1991; 40: 599-605.

- Dhar T, et al. Determination of dehydroepiandrosterone sulfate in plasma by a one-step enzyme immunoassay with a microtitre plate. Clin Chem 1985; 31: 1876-1879.
- Haning RV. Using DHEAS to monitor androgen disorders. Contemp Ob/Gyn 1981; 18(9):117-131.
- Derksen J, et al. Identification of virilizing adrenal tumors in hirsute women. N Engl J Med 1994; 968-1016.
- Davis S, et al. Androgens and the postmenopausal woman. J Clin Endocrinol Metab 1996; 81: 2759-2763.
- Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988; 34:27-33.
- Kricka L. Interferences in immunoassays - still a threat. Clin Chem 2000; 46: 1037-1038.
- Bjerner J, et al. Immunometric assay interference: incidence and prevention. Clin Chem 2002; 48: 613-621.

© 2015 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd. Todos os direitos reservados  
**Fabricante:** Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

**Endereço:** Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 P.R.China

**Endereço de e-mail:** service@mindray.com

**Site:** www.mindray.com

**Tel:** +86-755-26582888

**Fax:** +86-755-26582680

**Representante da EC:** Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

**Endereço:** Eiffelstraße 80, Hamburgo 20537, Alemanha

**Tel:** 0049-40-2513175

**Fax:** 0049-40-255726

#### Registrado no Brasil por:

Mindray do Brasil Comércio e Distribuição de Equipamentos Médicos Ltda.

**CNPJ:** 09.058.456.0001-87

**Endereço:** Av. Pompéia, 634 conj. comercial 406. Vila Pompéia - São Paulo - SP

**CEP:** 05022-000

**Responsável Técnica:** Carla Rodríguez Morales Kelciauskas - CRF/SP nº 34657

**Cadastro ANVISA:**

**Assistência Técnica/SAC:** 0800 8789 911 / sac.br@mindray.com