

MASSCHROM STEROIDS IN SERUM/PLASMA (MassChrom Esteroides em soro/plasma)

Reagente diagnóstico para determinação quantitativa *in vitro* de esteroides em soro/plasma por LC/MS-MS.

Nº de lote, data de fabricação e validade: vide rótulos dos frascos e da embalagem.

Artigo	Apresentação
72072	Kit Reagente para Análise de Esteroides em Soro /Plasma, 96 e 480 análises

Para informações detalhadas sobre o método e procedimento, favor consultar o Manual de Instruções para Análise de Esteroides- MASSCHROM STEROIDS IN SERUM-PLASMA no site www.biosys.com.br.

SUMÁRIO

O Kit de reagentes MassChrom® para análise por LC-MS/MS de esteroides em soro/plasma é uma ferramenta de diagnóstico *in vitro* para ser utilizada nos laboratórios clínicos para a detecção quantitativa de hormônios esteroides. Os analitos incluídos são: aldosterona, cortisol, cortisona, corticosterona, 11-desoxicortisol e 21-desoxicortisol, androstenediona, dehidroepiandrosterona (DHEA), sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEAS), 11-desoxicorticosterona, dihidrotestosterona, estradiol, 17 α -hidroxiprogesterona, progesterona e testosterona.

MÉTODO

Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (LC-MS / MS)

PRINCÍPIO

O preparo de amostras é idêntico para os dois painéis de esteroides. Essencialmente, os esteroides estão ligados a proteínas. A adição do Tampão de Extração inicia interações para remoção de proteínas, permitindo que os esteroides livres e conjugados sejam determinados como esteroides totais. Uma eficiente extração em fase sólida é realizada com o uso de placas de 96 poços SPE ou em colunas SPE individuais (Colunas preparo de amostras). Cada analito é aplicado ao padrão interno isotopicamente marcado, o que garante resultados quantitativos reproduzíveis e confiáveis.

REAGENTES

Componentes e composição para 96 testes / 480 testes:

Produto	Composição	Apresentação
Fase Móvel A (Mobile Phase 1)	Solução aquosa contendo metanol	1 x 900 mL / 4 x 900 mL
Fase Móvel B (Mobile Phase 2)	Solução contendo acetonitrila	1 x 1000 mL / 3 x 1000 mL
Tampão de eluição (Elution Buffer)	Solução contendo acetonitrila e metanol	1 x 50 mL / 5 x 50 mL
Mix Padrão Interno (Internal Standard Mix)	Solução metanólica contendo esteroides isotópicos marcados	1 x 5 mL / 5 x 5 mL
Tampão de extração (Extraction Buffer)	Tampão aquoso de ácido fórmico	1 x 45 mL / 5 x 45 mL
Tampão de reconstituição (Reconstitution Buffer)	Solução aquosa contendo metanol	1 x 10 mL / 5 x 10 mL
Reagente de equilíbrio 1 (Equilibration Reagent 1)	Solução contendo Acetonitrila e metanol	1 x 80 mL / 5 x 80 mL
Reagente de equilíbrio 2 (Equilibration Reagent 2)	Solução aquosa com conservante	1 x 80 mL / 5 x 80 mL

Solução de lavagem (Rising Solution)	Metanol	1 x 1000 mL / 1 x 1000 mL
Tampão de lavagem (Wash Buffer)	Solução aquosa com conservante	2 x 70 mL / 10 x 70 mL

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de validade indicada no rótulo, desde que as condições de armazenamento estabelecidas sejam obedecidas. A tabela abaixo mostra a temperatura de armazenagem para os reagentes do kit.

Artigo	Produto	Armazenamento
72011	Fase móvel A	18 - 30°C
72002	Fase móvel B	18 - 30°C
72009	Solução de lavagem	18 - 30°C
72033	Tampão de eluição	18 - 30°C
72005	Tampão de extração	18 - 30°C
72006	Tampão de reconstituição	18 - 30°C
72077	Reagente de equilíbrio 1	18 - 30°C
72008	Reagente de equilíbrio 2	18 - 30°C
72012	Tampão de lavagem	18 - 30°C
72044	Mix Padrão interno	Abaixo de - 18°C

CUIDADOS E PRECAUÇÕES

Por favor, consulte a ficha de segurança dos reagentes e tome as precauções necessárias para o manuseio de reagentes de laboratório.

GARANTIA

Estas instruções de uso devem ser lidas atentamente antes da utilização do produto e as instruções nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

DESCARTE

A Fase Móvel A, Fase Móvel B, Tampão de Eluição, Mix de Padrão Interno, Tampão de Reconstituição, Reagente de Equilíbrio 1, Solução de Lavagem, Tuning Mix (Steroid Panel 1 e 2), System Check Solution (Steroid Panel 1 e 2) contêm solventes orgânicos. Descarte os resíduos dos produtos em um recipiente para solventes livres de halogênios. Resíduos de amostras de pacientes e amostras preparadas, assim como controles e calibradores devem ser coletados e descartados como lixo potencialmente infeccioso. Faça o descarte de acordo com as exigências locais e nacionais.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Fase Móvel A: pronto para uso.

Fase Móvel B: pronto para uso.

Tampão de eluição: pronto para uso.

Mix Padrão interno: pronto para uso.

Tampão de extração: pronto para uso.

Tampão de reconstituição: pronto para uso.

Reagente de equilíbrio 1: pronto para uso.

Reagente de equilíbrio 2: pronto para uso.

Solução de lavagem: pronto para uso.

Tampão de lavagem: pronto para uso.

MATERIAIS REQUERIDOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- Espectrômetro de massa triplo quadrupolo com ESI (fornecido com sensibilidade suficiente)
- Sistema gradiente de HPLC (pressão limite de operação de pelo menos 350 bar) com forno de coluna e amostrador automático com sistema de resfriamento

- Coluna Analítica (art.72110)

Usando placas de 96 poços SPE de esteroides:

- Agitador para placas de 96 poços
- Centrífuga (por exemplo: Eppendorf (Centrífuga 5810 com o rotor A-4-81 e pelo menos duas caçambas MTP/Flex com pelo menos 62 mm de altura) ou Hettich (Universal 320 clássica com rotor 1460 e duas caçambas 1453 com pelo menos 62 mm de altura)
- Concentrador de amostra para placas de 96 poços (por exemplo: Techne®, Concentrador de amostra com Aquecedor Dri-Block®; inserts otimizados para placas de 96 poços de esteroides podem ser obtidos na Chromsystems; alternativamente o sistema completo pode ser obtido na Chromsystems, artigo 42720).

Usando colunas de preparo de amostras:

- Agitador do tipo vortex
- Centrífuga (por exemplo: Eppendorf, (Centrífuga 5810 com o rotor A-4-81 e pelo menos duas caçambas e inserts para frascos (Ø 17 mm, 95 mm em altura) ou Hettich (UNIVERSAL 320 clássico com rotor adequado com pelo menos duas caçambas e inserts para frascos (Ø 17 mm, 95 mm em altura)
- Concentrador de amostra para frascos (por exemplo: Techne®, Concentrador de amostra com Aquecedor Dri-Block®; inserts otimizados podem ser obtidos na Chromsystems; alternativamente o sistema completo pode ser obtido na Chromsystems, artigo 42730).

Controles e Calibradores

- System Check Solution MassChrom® Steroid Panel 1 (art. 72088) - MS: 10350840357
- System Check Solution MassChrom® Steroid Panel 2 (art. 72099) - MS: 10350840356
- Tuning Mix MassChrom® Steroid Panel 1 (art. 72019) - MS: 10350840357
- Tuning Mix MassChrom® Steroid Panel 2 (art. 72020) - MS: 10350840356
- 6PLUS1 Multilevel Serum Calibrator Set MassChrom® Steroid Panel 1 (art. 72038) - MS: 10350840357
- 6PLUS1 Multilevel Serum Calibrator Set MassChrom® Steroid Panel 2 (art. 72039) - MS: 10350840356
- MassCheck® Steroid Panel 1 Serum Control, Level I (art. 0341) - MS: 10350840357
- MassCheck® Steroid Panel 1 Serum Control, Level II (art. 0342) - MS: 10350840357
- MassCheck® Steroid Panel 1 Serum Control, Level III (art. 0343) - MS: 10350840357
- MassCheck® Steroid Panel 2 Serum Control, Level I (art. 0345) - MS: 10350840356
- MassCheck® Steroid Panel 2 Serum Control, Level II (art. 0346) - MS: 10350840356
- MassCheck® Steroid Panel 2 Serum Control, Level III (art. 0347) - MS: 10350840356

AMOSTRA

O material investigado é soro ou plasma.
É aconselhável não usar tubos de amostra de sangue com separadores de gel. Alguns géis podem adsorver parcialmente analitos, levando a resultados de análise falsamente baixos. Além disso, alguns géis são conhecidos por produzirem picos de

interferência, mas estes podem ser separados cromatograficamente. Em casos raros um pico de interferência inadequadamente separado foi observado com tubos de coleta com heparina lítica (ver capítulo 14 para Interferentes Conhecidos).

Estabilidade das amostras: Os analitos aldosterona, cortisol, cortisona, corticosterona, 11-deoxicortisol, androstenediona, DHEAS, estradiol, 17 α -hidroxiprogesterona, progesterona e testosterona são todos estáveis por até 1 dia a temperatura ambiente [1 - 3]. Para aldosterona e progesterona, uma estabilidade reduzida ou nenhuma é descrito [3,4]. Os esteroides mencionados acima são estáveis por pelo menos 3 dias a +2 a +8 ° C + [1 - 4]. DHEA é estável por 4 dias à temperatura ambiente ou na geladeira (+2 a +8° C) [5]. Para 11-deoxicorticosterona, 21-deoxicortisol e dihidrotestosterona não há dados de estabilidade.

PROCEDIMENTOS DO TESTE

Ajustes do

instrumento:

Volume de injeção: 5 - 50 μ L (dependente do espectrômetro de massa)
Tempo de corrida: Painel 1: 10,0 min
Painel 2: 11,7 min
Temperatura da coluna: Painel 1: +32°C
Painel 2: +27°C
Solução de limpeza da Solução de lavagem (artigo 72009)
agulha do injetor:

Para estabilizar o volume ótimo de injeção, injete volumes crescentes do calibrador 1 preparado (72038/1 ou 72039/1), de 5 a 50 μ L, até que o tamanho de pico requerido e a taxa apropriada sinal-ruído tenha sido estabelecida. Então use as curvas de calibração para verificar se todos os analitos são lineares ao longo da faixa de trabalho.

Perfil de gradiente:

O perfil de gradiente apresentado aqui é indicado como uma base para otimização. O perfil pode precisar ser modificado devido a diferenças no volume morto entre os sistemas de HPLC.

Perfil gradiente do Painel 1

Tempo (min)	Fase Móvel A	Fase Móvel B	Fluxo (mL/min)
0,00	83 %	17 %	0,8
2,00	83 %	17 %	0,8
2,01	67 %	33 %	0,8
3,40	67 %	33 %	0,8
3,41	67 %	33 %	0,4
4,70	67 %	33%	0,4
4,71	63 %	37 %	0,4
6,20	63 %	37 %	0,4
6,21	63 %	37 %	0,6
8,00	63 %	37 %	0,6
8,01	0 %	100 %	0,6
9,00	0 %	100 %	0,6
9,01	83 %	17 %	0,8
10,0	83 %	17 %	0,8

Perfil gradiente do Painel 2

Tempo (min)	Fase Móvel A	Fase Móvel B	Fluxo (mL/min)
0,00	70 %	30 %	0,8
1,00	70 %	30 %	0,8
1,01	57 %	43 %	0,8
4,20	57 %	43 %	0,8
4,21	57 %	43%	0,5
5,15	57 %	43 %	0,5
5,16	50 %	50 %	0,5
6,25	50 %	50 %	0,5
8,90	30 %	70 %	0,5
8,91	30 %	70 %	0,8

9,80	30 %	70 %	0,8
9,81	0 %	100 %	0,8
10,70	0 %	100 %	0,8
10,71	70 %	30 %	0,8
11,70	70 %	30 %	0,8

Perfil de alternância MS/Descarte:

Uma alternância entre MS/descarte é um recurso opcional que transporta o solvente para o descarte depois que ele passa pela coluna analítica. A posição da válvula é alterada antes da eluição do analito (MS/MS).

Posição da válvula	Painel 1	Painel 2
Descarte	0-2,5 min	0 - 1,5 min
MS/MS	2,5 - 9,8 min	1,5 min - 11 min
Descarte	9,8 - 10 min	11 - 11,7 min

Perfil de gradiente alternativo para o painel 2

Pode haver necessidade de ajuste do gradiente do painel 2 devido a possível interferência com DHEA resultante do perfil de gradiente descrito acima.

Se o analito DHEA não for quantificado, o gradiente descrito acima ainda pode ser usado.

O perfil de gradiente mostrado é designado como base para otimização. Devido aos diferentes volumes mortos dos sistemas individuais de HPLC, o seguinte gradiente pode precisar ser modificado.

Perfil de gradiente alternativo para o painel 2:

Tempo (min)	Fase Móvel A %	Fase Móvel B %	Fluxo ml/min)
0,00	70	30	0,8
1,00	70	30	0,8
1,01	57	43	0,8
3,70	57	43	0,8
3,71	57	43	0,5
4,20	57	43	0,5
4,21	50	50	0,5
6,00	50	50	0,5
8,80	30	70	0,5
8,81	30	70	0,8
9,80	30	70	0,8
9,81	0	100	0,8
10,70	0	100	0,8
10,71	70	30	0,8
11,70	70	30	0,8

PROCEDIMENTO DE PREPARO DAS AMOSTRAS:

Para preparar amostras de pacientes, controles e calibradores para análise, execute as etapas seguintes na ordem apresentada.

Preparo da amostra com placa de 96 poços SPE de esteroides

Equilibrando a placa de 96 poços SPE de esteroides

1. Colocar a placa de 96 poços SPE de esteroides em cima da Placa de Descarte
2. Pipetar 0,8 ml de Reagente de Equilíbrio 1 em cada poço da placa de 96 poços SPE de esteroides
3. Centrifugar por 1 min a 400 x g, verificar se houve a corrida completa, descarte o efluente
4. Repita as etapas 2 e 3, com 0,8 ml de Reagente de Equilíbrio 2

Preparo da amostra com placa de 96 poços SPE de esteroides

5. Pipetar 500 µl da amostra/calibrador/controle bem homogeneizados em cada poço da placa SPE de esteroides.
6. Adicionar 50 µl do Mix de Padrão Interno e 450 µl do Tampão de Extração
7. Agitar a placa de 96 poços SPE de esteroides por 2 min a 600 rpm

8. Centrifugar por 1 min a 400 x g, verificar se houve a corrida completa, descarte o efluente
9. Adicionar 0,7 ml de Tampão de Lavagem e centrifugar por 1 min a 400 x g, descarte o efluente
10. Adicionar 0,7 ml de Tampão de Lavagem e centrifugar por 2 min a 3000 x g até secar, descarte o efluente
11. Colocar a placa de 96 poços SPE de esteroides em cima da Placa de Coleta de esteroides
12. Adicionar 500 µl de Tampão de Eluição em cada poço e centrifugar por 1 min a 400 x g

Concentração e injeção

13. Evaporar os eluatos na Placa de Coleta de esteroides sob nitrogênio ou ar comprimido a 50°C até secar (ver também o capítulo 6: materiais necessários adicionais não fornecidos)
14. Reconstituir com 100 µl de Tampão de Reconstituição cada na Placa de Coleta de esteroides.
15. Agitar a placa de coleta de esteroides por 2 min a 900 rpm
16. Selar a placa de coleta de esteroides com a película adesiva, transferir para o amostrador automático
17. Injetar 5-50 µl de cada eluato no sistema LC-MS/MS

Preparo da amostra com Colunas de Preparo de Amostras

Equilíbrio da Coluna de Preparo de Amostra

1. Colocar a Coluna de Preparo em tubos para preparo de amostras
2. Pipetar 0,8 ml de Reagente de Equilíbrio 1 em cada Coluna de Preparo
3. Centrifugar por 1 min a 400 x g, verificar se houve a corrida completa, descarte o efluente
4. Repita as etapas 2 e 3, com 0,8 ml de Reagente de Equilíbrio 2

Preparo da amostra com Colunas de Preparo de Amostras

5. Pipetar 500 µl da amostra/calibrador/controle bem homogeneizados em cada Coluna de Preparo
6. Adicionar 50 µl do Mix Padrão Interno e 450 µl de Tampão de Extração
7. Homogeneizar a coluna de amostra (vortex - levemente por 15 segundos)
8. Centrifugar por 1 min a 400 x g, verificar se houve a corrida completa, descarte o efluente
9. Adicionar 0,7 ml de Tampão de Lavagem e centrifugar por 1 min a 400 x g, descarte o efluente
10. Adicionar 0,7 ml de Tampão de Lavagem e centrifugar por 2 min a 3000 x g até secar, descarte o efluente
11. Colocar os frascos de amostrador automático com fundo cônico (autosampler vials) identificados em tubos de preparo de amostras limpos e em seguida colocar as Colunas de Preparo no topo
12. Adicionar 1 ml de Tampão de Eluição e centrifugar por 1 min a 400 x g

Concentração e injeção

13. Evaporar os eluatos nos frascos do amostrador automático com fundo cônico cuidadosamente sob nitrogênio ou ar comprimido a 50°C até a secar (ver também o capítulo 6: materiais adicionais necessários não fornecidos)
14. Reconstituir com 100 µl de Tampão de Reconstituição nos frascos do amostrador automático com fundo cônico, fechar os frascos
15. Agitar os frascos com fundo cônico do amostrador automático por 15 segundos no vortex
16. Centrifugar 5 min a 15.000 x g
17. Transferir para o amostrador automático
18. Injetar 5-50 µl de cada eluato no sistema LC-MS / MS

Estabilidade das amostras preparadas

As amostras preparadas podem evaporar na Placa de Coleta de esteroides e desta maneira devem ser analisadas dentro de 24 horas. Se esta opção não for possível, as amostras extraídas devem ser transferidas para frascos de vidro e bem vedadas - de forma análoga aos frascos de fundo cônico do amostrador automático.

Estabilidade das amostras preparadas:

Temperatura de armazenamento	Estabilidade	Outras condições de armazenamento
+20 a +25°C	3 dias	Protegido da luz, bem fechado
+2 a +8°C	14 dias	Protegido da luz, bem fechado
Abaixo de -18°C	14 meses	Protegido da luz, bem fechado

Manuseio de amostras fora da faixa linear

Amostras de pacientes cujas concentrações dos analitos estiverem fora da faixa linear (ver parágrafo "Limite Inferior de Quantificação (LLOQ) e linearidade (limite superior de quantificação) no Apêndice III: Dados de Desempenho) devem ser manuseadas como a seguir:

Antes do preparo de amostras, dilua as amostras com solução salina isotônica (9.0 g/l), razão máxima 1:2.5, de forma que o valor do resultado esteja dentro da faixa linear do método independente do fator de diluição. Então prepare as amostras como indicado.

Ao calcular as concentrações dos analitos de amostras diluídas, considerar o fator de diluição adequado.

TRANSIÇÕES MRMs

As tabelas que seguem mostram todos os MRMs para os analitos e seus padrões internos deuterados.

Todos os estados de transição de massa (MRM 1 = quantificadores, MRM remanescente = qualificador) são validados.

Transições MRM recomendadas para o painel 1 de esteroides (Tuning Mix Esteroid Panel 1, artigo 72019):

Analito/ISTD	Polaridade ESI	MRM 1	MRM 2	MRM 3
Aldosterona	negativo	359 → 331	359 → 189	---
Aldosterona-d ₄	negativo	363 → 335	363 → 190	---
Costicosterona	positivo	347 → 121	347 → 109	347 → 97
Corticosterona-d ₈	positivo	355 → 125	355 → 113	355 → 100
Cortisol	positivo	363 → 97	363 → 121 364 → 121*	363 → 327
Cortisol-d ₄	positivo	367 → 97	367 → 121 368 → 121*	367 → 331
Cortisona	positivo	361 → 163	361 → 121	361 → 105
Cortisona-d ₈	positivo	369 → 168	369 → 124	369 → 107
11-Deoxicortisol	positivo	347 → 97	347 → 109	---
11-Deoxycortisol-d ₅	positivo	352 → 100	352 → 113	---
21-Deoxicortisol	positivo	347 → 121	347 → 97	347 → 109
21-Deoxicortisol-d ₈	positivo	355 → 125	355 → 113	355 → 100

*Para espectrômetros de massa com baixa linearidade do detector, é recomendado a medir o cortisol como qualificador usando o isótopo ¹³C.

Transições MRM recomendadas para o painel 2 de esteroides (Tuning Mix Esteroid Panel 2, artigo 72020):

Analito/ISTD	Polaridade ESI	MRM 1	MRM 2
Androstenediona	positivo	287 → 97	287 → 109
Androstenediona- ¹³ C ₃	positivo	290 → 112	290 → 100
Dehidroepiandrosterona (DHEA)	positivo	289 → 213	271 → 213
Dehidroepiandrosterona (DHEA)-d ₅	positivo	294 → 218	276 → 218
Dehidroepiandrosterona sulfato (DHEAS)	negativo	369 → 99 370 → 82*	369 → 82 370 → 99*
Dehidroepiandrosterona sulfato (DHEAS)-d ₆	negativo	375 → 100 376 → 82*	375 → 82 376 → 100

11-Deoxicorticosterona	positivo	331 → 109	331 → 97
11-Deoxicorticosterona-d ₈	positivo	339 → 113	339 → 100
Dehidrotosterona (DHT)	positivo	291 → 255	291 → 159
Dehidrotosterona (DHT)-d ₃	positivo	294 → 258	294 → 159
Estradiol	positivo	255 → 159	255 → 133
Estradiol-d ₅	positivo	260 → 161	260 → 135
17α-hidroxiprogesterona	positivo	331 → 109	331 → 97
17α-hidroxiprogesterona- ¹³ C ₃	positivo	334 → 112	334 → 100
Progesterona	positivo	315 → 97	315 → 109
Progesterona- ¹³ C ₃	positivo	318 → 100	318 → 112
Testosterona	positivo	289 → 97	289 → 109
Testosterona-d ₃	positivo	292 → 97	292 → 109

*Para espectrômetros de massa com baixa linearidade do detector, é recomendado a medir o DHEAS usando o isótopo ¹³C.

As massas listadas acima servem apenas como um ponto de partida. A posição exata dos sinais pode variar de sistema MS para sistema de MS e deve ser determinada individualmente e otimizada, pelo menos com uma casa decimal.

CÁLCULO MANUAL

Os coeficientes das áreas dos picos dos analitos divididos pelas intensidades do sinal do padrão interno (para p estradiol o coeficiente da altura do pico) traçada em um gráfico contra as concentrações do analito produzem uma curva de calibração por regressão linear, ponderação 1/x² (dehidrotosterona: ponderação 1/x. A equação resultante é aplicada para cada substância.

Para o cálculo manual são necessários os seguintes dados:

Área ou altura do pico da substância A no cromatograma MRM = A_{Amostra}

Área ou altura do pico do padrão interno no cromatograma MRM = IS_{Amostra}

Inclinação da curva de calibração = a

Intercepção-Y da curva de calibração = b

A concentração do analito A na amostra C_{Amostra} é então calculada como a seguir:

$$C_{\text{Amostra}} = \frac{(A_{\text{Amostra}} / IS_{\text{Amostra}}) - b}{a}$$

FATORES DE CONVERSÃO

Analito	µg/L em nmol/L	nmol/L em µg/L
Aldosterona	x 2,77	x 0,3604
Androstenediona	x 3,49	x 0,2864
Corticosterona	x 2,89	x 0,3464
Cortisol	x 2,76	x 0,3625
Cortisona	x 2,77	x 0,3605
11-Deoxicorticosterona	X 3,03	X 0,3305
11-Deoxicortisol	x 2,89	x 0,3465
21-Desoxicortisol	x 2,89	x 0,3465
DHEA	x 3,47	x 0,2884
DHEAS	x 2,71	x 0,3685
Dehidrotosterona	x 3,44	x 0,2904
Estradiol	x 3,67	x 0,2724
17α-hidroxiprogesterona	x 3,03	x 0,3305
Progesterona	x 3,18	x 0,3145
Testosterona	x 3,47	x 0,2884

CALIBRADORES E CONTROLES

A Chromsystems disponibiliza os seguintes produtos para calibrar e monitorar a precisão e exatidão das análises:

Artigo	Produto	Conteúdo
72038	6PLUS1 Multilevel Serum Calibrator Set MassChrom Steroid Panel 1	7 x 3 mL
0341	MassCheck Steroid Panel 1 Serum Control, Level I (liof.)	5 x 3 mL
0342	MassCheck Steroid Panel 1 Serum Control, Level II (liof.)	5 x 3 mL
0343	MassCheck Steroid Panel 1 Serum Control, Level III (liof.)	5 x 3 mL
72039	6PLUS1 Multilevel Serum Calibrator Set MassChrom® Steroid Panel 2	7 x 3 mL
0345	MassCheck® Steroid Panel 2 Serum Control, Level I	5 x 3 mL
0346	MassCheck® Steroid Panel 2 Serum Control, Level II	5 x 3 mL
0347	MassCheck® Steroid Panel 2 Serum Control, Level III	5 x 3 mL

DESEMPENHO / CARACTERÍSTICAS

Os dados de desempenho foram determinados e validados nos seguintes equipamentos:

- Espectrômetro de massa SCIEX QTRAP® 5500 com sistema UHPLC Shimadzu Nexera
- Espectrômetro de massa Waters® Xevo™ TQ-S com sistema UHPLC ACQUITY™ UPLC H-Class

Os usuários que desejam utilizar este Kit **MassChrom®** (artigo 72072) como um espectrômetro de massa diferente daqueles aplicados aqui devem validar o método neste dispositivo.

Recuperação:

A recuperação relativa foi determinada com as matrizes de soro e plasma. A matriz foi fortificada repetidamente com os analitos para este propósito. Três níveis de concentração dentro das faixas de trabalho dos analitos foram investigados para este propósito. A recuperação é calculada usando a seguinte fórmula:

$$\text{Recuperação [\%]} = \frac{\text{Concentração medida na amostra fortificada} - \text{concentração medida na amostra simples}}{\text{concentração fortificada}} \times 100$$

Taxas de recuperação, determinação com espectrômetro de massa SCIEX QTRAP® 5500

Substância	Taxa de recuperação em soro % (concentração fortificada em µg/l)			Taxa de recuperação em plasma % (concentração fortificada em µg/l)		
	103 (0.065)	95 (0.360)	97 (2.00)	105 (0.065)	94 (0.360)	96 (2.00)
Aldosterona	106 (0.400)	97 (2.00)	105 (15.0)	100 (0.4)	97 (2.00)	105 (15.0)
Androstenediona	106 (1.21)	97 (4.99)	105 (42.7)	100 (1.21)	97 (4.99)	105 (42.7)
Corticosterona	107 (23.5)	93 (97.7)	101 (192)	114 (23.5)	97 (97.7)	103 (192)
Cortisol	108 (3.69)	97 (11.0)	98 (31.1)	98 (3.69)	96 (11.0)	99 (31.1)
Cortisona	94 (2.38)	103 (10.9)	104 (63.3)	98 (2.38)	101 (10.9)	106 (63.3)
Dehidroepiandrosterona (DHEA)	101 (435)	90 (1630)	97 (4920)	107 (435)	93 (1630)	98 (4920)
Dehidroepiandrosterona sulfato (DHEAS)	111 (0.475)	94 (3.29)	94 (20.9)	117 (0.475)	92 (3.29)	96 (20.9)
11-Deoxicortisterona	86 (0.095)	95 (1.52)	100 (14.2)	110 (0.095)	96 (1.52)	99 (14.2)
11-Deoxicortisol	92 (0.166)	102 (1.02)	101 (5.04)	95 (0.166)	96 (1.02)	100 (5.04)
21-Desoxicortisol	98 (0.250)	108 (0.684)	104 (1.71)	104 (0.250)	109 (0.684)	103 (1.71)
Dihidrotestosterone	100 (0.100)	100 (0.500)	100 (5.00)	97 (0.100)	92 (0.500)	100 (5.00)
Estradiol	81 (0.104)	92 (0.358)	99 (1.21)	90 (0.358)	103 (0.523)	100 (1.21)
17α-Hidroxiprogesterona	88 (0.500)	101 (5.00)	108 (19.9)	88 (0.500)	93 (5.00)	101 (19.9)
Progesterona	92 (0.277)	95 (0.474)	99 (7.19)	94 (0.277)	86 (0.474)	98 (7.19)
Testosterona						

Taxas de recuperação, determinação com espectrômetro de massa Waters® Xevo™ TQ-S

Substance	Taxa de recuperação em soro (concentração fortificada em µg/l)			Taxa de recuperação em plasma (concentração fortificada em µg/l)		
	106 (0.068)	95 (0.356)	113 (1.67)	99 (0.068)	96 (0.356)	112 (1.67)
Aldosterona	94 (0.400)	96 (2.00)	108 (15.0)	95 (0.4)	96 (2.00)	108 (15.0)
Androstenediona	111 (1.35)	101 (5.11)	111 (40.8)	103 (1.31)	96 (5.11)	111 (40.8)
Corticosterona	105 (23.4)	100 (100)	100 (201)	106 (23.4)	100 (100)	100 (201)
Cortisol	110 (3.69)	107 (10.4)	104 (32.1)	104 (3.69)	104 (10.4)	102 (32.1)
Cortisona	83 (2.44)	84 (11.7)	89 (65.3)	86 (2.44)	86 (11.7)	93 (65.3)
Dehidroepiandrosterona (DHEA)	91 (433)	92 (1584)	96 (5074)	92 (433)	91 (1584)	96 (5074)
Dehidroepiandrosterona sulfato (DHEAS)	107 (0.091)	99 (0.484)	101 (2.94)	107 (0.091)	101 (0.484)	102 (2.94)
11-Deoxicortisterona	115 (0.093)	97 (1.57)	99 (14.7)	105 (0.093)	97 (1.57)	98 (14.7)
11-Deoxicortisol	87 (0.176)	94 (1.11)	102 (5.08)	82 (0.176)	91 (1.11)	98 (5.08)
21-Deoxicortisol	83 (0.249)	94 (0.680)	96 (1.74)	99 (0.249)	104 (0.680)	101 (1.74)
Dihidrotestosterona	90 (0.100)	103 (0.500)	96 (5.00)	92 (0.100)	98 (0.500)	95 (5.00)
Estradiol	101 (0.510)	99 (2.10)	100 (7.69)	102 (0.510)	98 (2.10)	100 (7.69)
17α-Hidroxiprogesterona	88 (0.500)	101 (5.00)	109 (19.9)	87 (0.500)	103 (5.00)	110 (19.9)
Progesterona	103 (0.262)	101 (0.432)	96 (7.36)	104 (0.262)	100 (0.432)	97 (7.36)
Testosterona						

Limite inferior de quantificação (LLOQ) e linearidade (limite superior de quantificação):

A linearidade foi determinada pela fortificação de amostras de soro/plasma com quantidades definidas de substâncias padrões. O limite inferior de quantificação (LLOQ) foi determinada usando diluições definidas de amostras de soro com soro livre de analitos.

O método é linear a partir do limite inferior de quantificação (LLOQ) até o limite de quantificação superior estabelecido (faixa linear).

Limite de quantificação e linearidade, determinação com espectrômetro de massas SCIEX QTRAP® 5500

Substância	LLOQ (µg/l)	Faixa linear de até pelo menos (µg/l)	
		Soro	Plasma
Aldosterona	0.014	6.00	6.00
Androstenediona	0.023	18.0	27.0
Corticosterona	0.175	100	100
Cortisol	1.520	521	600
Cortisona	0.148	51.8	80.0
Dehidroepiandrosterona (DHEA)	0.229	120	120
Dehidroepiandrosterona sulfato (DHEAS)	24.40	18000	18000
11-Deoxicortisterona	0.023	6.00	6.00
11-Deoxicortisol	0.030	30.0	30.0
21-Deoxicortisol	0.027	10.0	10.0
Dihidrotestosterona	0.042*	3.00	3.00
Estradiol	0.025*	10.0	10.0
17α-Hidroxiprogesterona	0.040	30.0	30.0
Progesterona	0.030	25.0	45.0
Testosterona	0.005	24.0	24.0

*Devido a variações individuais na composição da matriz, o LLOQ de amostras de pacientes pode diferir do valor especificado e possivelmente ser maior.

Limite de quantificação e linearidade, determinação com espectrômetro de massa Waters® Xevo™ TQ-S

Substância	LLOQ (µg/l)	Faixa linear de até pelo menos (µg/l)	
		Soro	Plasma
Aldosterona	0.025	6.00	6.00
Androstenediona	0.010	30.0	30.0

Substância	LLOQ (µg/l)	Faixa linear de até pelo menos (µg/l)	
	Soro	Soro	Plasma
Corticosterona	0.048	100	100
Cortisol	0.966	600	600
Cortisona	0.050	80.0	80.0
Dehidroepiandrosterona (DHEA)	0.500	120	120
Dehidroepiandrosterona sulfato (DHEAS)	13.0	18000	18000
11-Deoxicorticosterona	0.043	6.00	6.00
11-Deoxicortisol	0.068	30.0	30.0
21-Deoxicortisol	0.046	10.0	10.0
Dihidrotestosterona	0.043*	3.00	3.00
Estradiol	0.024*	10.0	10.0
17α-Hidroxiprogesterona	0.044	30.0	30.0
Progesterona	0.035	50.0	50.0
Testosterona	0.012	24.0	24.0

*Devido a variações individuais na composição da matriz, o LLOQ de amostras de pacientes pode diferir do valor especificado e possivelmente ser maior.

Precisão intra-ensaio:

Os coeficientes de variação foram determinados em três concentrações diferentes por repetições diferentes (n = 10) da mesma amostra de soro/plasma em uma sequência:

Precisão intra-ensaio, determinação com espectrômetro de massas SCIEX QTRAP® 5500

Substância	Coeficiente de variação em % (concentração do analito em µg/l)		
	Aldosterona	1.9 (0.101)	0.9 (0.251)
Androstenediona	1.9 (0.287)	2.0 (1.13)	1.2 (9.44)
Corticosterona	2.3 (0.837)	2.3 (4.08)	2.0 (29.0)
Cortisol	1.9 (27.8)	1.1 (65.5)	0.9 (190)
Cortisona	1.8 (2.03)	1.3 (11.6)	0.9 (28.9)
Dehidroepiandrosterona (DHEA)	2.4 (1.97)	1.5 (12.2)	2.2 (39.6)
Dehidroepiandrosterona sulfato (DHEAS)	1.6 (227)	0.9 (1384)	0.7 (4696)
11-Deoxicorticosterona	3.8 (0.078)	2.0 (0.195)	2.2 (0.968)
11-Deoxicortisol	2.3 (0.284)	2.1 (1.42)	1.9 (9.49)
21-Deoxicortisol	6.2 (0.094)	3.4 (0.373)	2.5 (2.31)
Dihidrotestosterona	3.5 (0.081)	1.8 (0.363)	2.0 (1.13)
Estradiol	7.2 (0.087)	4.6 (0.409)	6.0 (2.56)
17α-Hidroxiprogesterona	1.7 (0.313)	0.8 (1.57)	1.2 (9.26)
Progesterona	1.1 (0.320)	1.4 (2.94)	0.8 (14.5)
Testosterona	1.4 (0.202)	0.8 (1.48)	0.6 (7.78)

Precisão intra-ensaio, determinação com espectrômetro de massas Waters® Xevo™ TQ-S

Substância	Coeficiente de variação em % (concentração do analito em µg/l)		
	Aldosterona	2.7 (0.101)	2.0 (0.251)
Androstenediona	1.3 (0.287)	1.3 (1.13)	1.2 (9.44)
Corticosterona	3.0 (0.837)	2.4 (4.08)	2.5 (29.0)
Cortisol	1.6 (27.8)	1.4 (65.5)	1.2 (190)
Cortisona	1.4 (2.03)	1.0 (11.6)	1.6 (28.9)
Dehidroepiandrosterona (DHEA)	2.0 (1.97)	2.2 (12.2)	2.0 (39.6)
Dehidroepiandrosterona sulfato (DHEAS)	1.6 (243)	0.8 (1417)	0.5 (4770)
11-Deoxicorticosterona	2.2 (0.078)	2.6 (0.195)	1.5 (0.968)
11-Deoxicortisol	2.6 (0.284)	2.8 (1.42)	2.7 (9.49)
21-Deoxicortisol	5.4 (0.094)	4.0 (0.373)	4.3 (2.31)
Dihidrotestosterona	2.3 (0.081)	1.6 (0.363)	1.4 (1.13)
Estradiol	5.9 (0.087)	7.7 (0.409)	3.3 (2.56)
17α-Hidroxiprogesterona	1.2 (0.313)	1.8 (1.57)	1.2 (9.26)
Progesterona	1.5 (0.320)	0.9 (2.94)	1.2 (14.5)
Testosterona	1.4 (0.202)	1.6 (1.48)	0.8 (7.78)

Precisão inter-ensaio:

A determinação da precisão inter-ensaio foi feita em três diferentes concentrações por preparos repetidos (n = 5) da mesma amostra em 20 dias diferentes.

Precisão inter-ensaio, determinação com espectrômetro de massas SCIEX QTRAP® 5500

Substância	Coeficiente de variação em % (concentração do analito em µg/l)		
	Aldosterona	5.9 (0.101)	5.2 (0.251)
Androstenediona	8.2 (0.287)	7.2 (1.13)	5.9 (9.44)
Corticosterona	6.0 (0.837)	4.6 (4.08)	3.9 (29.0)
Cortisol	5.0 (27.8)	4.0 (65.5)	3.8 (190)
Cortisona	5.6 (2.03)	3.6 (11.6)	3.7 (28.9)
Dehidroepiandrosterona (DHEA)	7.5 (1.97)	4.6 (12.2)	4.9 (39.6)
Dehidroepiandrosterona sulfato (DHEAS)	6.9 (227)	4.9 (1384)	4.1 (4696)
11-Deoxicorticosterona	9.7 (0.078)	5.5 (0.195)	4.2 (0.968)
11-Deoxicortisol	6.3 (0.284)	4.7 (1.42)	4.6 (9.49)
21-Deoxicortisol	10.6 (0.094)	5.4 (0.373)	4.4 (2.31)
Dihidrotestosterona	11.0 (0.081)	4.9 (0.363)	5.0 (1.13)
Estradiol	14.0 (0.087)	8.2 (0.409)	8.4 (2.56)
17α-Hidroxiprogesterona	9.5 (0.313)	4.2 (1.57)	3.8 (9.26)
Progesterona	10.2 (0.320)	4.5 (2.94)	5.9 (14.5)
Testosterona	8.9 (0.202)	4.5 (1.48)	4.5 (7.78)

Precisão inter-ensaio, determinação com espectrômetro de massas Waters® Xevo™ TQ-S

Substância	Coeficiente de variação em % (concentração do analito em µg/l)		
	Aldosterona	5.1 (0.101)	4.5 (0.251)
Androstenediona	9.6 (0.287)	4.8 (1.13)	4.6 (9.44)
Corticosterona	7.1 (0.837)	4.8 (4.08)	4.1 (29.0)
Cortisol	5.0 (27.8)	3.4 (65.5)	3.1 (190)
Cortisona	5.6 (2.03)	3.8 (11.6)	3.5 (28.9)
Dehidroepiandrosterona (DHEA)	8.5 (1.97)	5.5 (12.2)	5.1 (39.6)
Dehidroepiandrosterona sulfato (DHEAS)	6.7 (243)	4.3 (1417)	4.1 (4770)
11-Deoxicorticosterona	9.2 (0.078)	5.1 (0.195)	3.9 (0.968)
11-Deoxicortisol	5.5 (0.284)	4.1 (1.42)	3.9 (9.49)
21-Deoxicortisol	10.5 (0.094)	6.6 (0.373)	5.4 (2.31)
Dihidrotestosterona	10.6 (0.081)	5.3 (0.363)	4.9 (1.13)
Estradiol	13.6 (0.087)	8.7 (0.409)	7.1 (2.56)
17α-Hidroxiprogesterona	9.1 (0.313)	4.0 (1.57)	3.8 (9.26)
Progesterona	11.7 (0.320)	5.4 (2.94)	5.4 (14.5)
Testosterona	8.8 (0.202)	4.1 (1.48)	4.2 (7.78)

Estes dados foram estabelecidos no nosso laboratório, com os respectivos componentes do kit e exclusivamente sobre a base das nossas obrigações regulamentares. Nós enfatizamos que estes dados não são adequados para comparar os sistemas de medição utilizados, nem implicam qualquer juízo sobre a performance geral dos equipamentos.

Drift

Para identificar qualquer desvio da concentração do analito ao longo do tempo, a concentração de todos os analitos nos três controles foram comparados ao longo de um período de 20 dias. Este teste foi realizado em três sistemas diferentes de LC-MS / MS (SCIEX QTRAP® 5500, Waters® Xevo™ TQ-S). Não foi observada deriva para quaisquer analitos.

Contaminação cruzada

O calibrador com a concentração do analito mais elevada foi medido imediatamente seguido pelo calibrador branco. As áreas dos picos do branco foram comparadas com a área do calibrador em porcentagem. Esse teste foi realizado em um SCIEX QTRAP® 5500. Avaliação dos dados obtidos para todos os analitos não mostrou nenhum efeito de contaminação apreciável. Em todos os ensaios, a concentração do calibrador branco medido estava abaixo do limite de quantificação.

VALORES DE REFERÊNCIA

Os intervalos de referência especificados são guias baseados na literatura [2, 6, 7, 8, 9, 10]. Eles podem ser diferentes de outros dados publicados. Como os níveis para os vários esteroides variam consideravelmente e são dependentes da idade e gênero, determine valores de referência específicos para o seu laboratório. Ao determinar os intervalos, tenha certeza de estar cumprindo com os requisitos locais nacionais.

Intervalos de referência para aldosterona:

População de pacientes	Método	Intervalo de referência em ng/L [2]
12 horas	Imunoensaio	343 - 1253
24 horas	Imunoensaio	217 - 1054
2 dias	Imunoensaio	191 - 1123
3 dias	Imunoensaio	90 - 913
4 dias	Imunoensaio	83 - 921
5 dias	Imunoensaio	72 - 831
6-31 dias	Imunoensaio	69 - 812
1-12 meses	Imunoensaio	69 - 552
1-2 anos	Imunoensaio	61 - 495
2-6 anos	Imunoensaio	40 - 271
6-14 anos	Imunoensaio	31 - 148
Adultos		
Sentado	LC/MS	< 25 - 229
Sentado	Imunoensaio	65 - 285
Supino	Imunoensaio	29 - 145

Intervalos de referência para aldostenediona (N.E.: não especificado):

População de pacientes	Método	Intervalo de referência [6]	
		HOMEM (ng/L)	MULHER (ng/L)
0 - 1 dia	N.E.	150 - 1450	150 - 1750
1 - < 7 dias	N.E.	200 - 1110	250 - 950
7 - 28 dias	N.E.	250 - 1600	90 - 900
1 - 12 meses	N.E.	60 - 900	60 - 1450
1 - < 4 anos	N.E.	60 - 350	60 - 450
P1*	N.E.	250 - 1900	30 - 600
P2*	N.E.	150 - 1200	300 - 1450
P3*	N.E.	180 - 1450	300 - 2000
P4*	N.E.	150 - 2200	180 - 2600
P5*	N.E.	400 - 2600	180 - 2600
Adultos	N.E.	500 - 2500	500 - 2500

*P = estágio puberal

Intervalos de referência para corticosterona:

Método de amostragem	Método	Intervalo de referência em µg/L [7]
Nível matinal	Radioimunoensaio	1 - 20
Por ACTH	Radioimunoensaio	< 65

Intervalos de referência para cortisol:

População de pacientes	Método	Intervalo de referência
Crianças (08h da manhã)		
Idade		Intervalo de referência em µg/L [2]
5 dias	Imunoensaio	6 - 200
2 - 12 meses	Imunoensaio	24 - 230
2 - 15 anos	Imunoensaio	25 - 230
16 - 18 anos	Imunoensaio	24 - 290
Adultos		
Tempo de amostragem		Intervalo de referência em µg/L [2]
08h da manhã	Imunoensaio	50 - 250
Meia-noite	Imunoensaio	< 5

Intervalos de referência para cortisona:

População de pacientes	Método	Intervalo de referência em µg/L [10]
Crianças	LC/MS	2,3 - 17,7
Adultos	LC/MS	6 - 27

Intervalos de referência para 11-deoxicorticosterona:

População de pacientes	Método	Intervalo de referência em µg/L [7]
Adultos	Radioimunoensaio	0,02 - 0,15
Por ACTH	Radioimunoensaio	< 0,9
Prematuros	Radioimunoensaio	< 1,05
Recém-nascidos	Radioimunoensaio	< 1,05
Crianças de 2 - 12 meses	Radioimunoensaio	0,07 - 0,49
Crianças de 2 - 10 anos	Radioimunoensaio	0,02 - 0,34

Intervalos de referência para 11-deoxicortisol:

População de pacientes	Método	Intervalo de referência em µg/L [7]
Adultos	Radioimunoensaio	0,5 - 3
Prematuros	Radioimunoensaio	< 14
Crianças (2 meses - 12 anos)	Radioimunoensaio	0,2 - 2,5

Intervalos de referência para 21-deoxicortisol

População de pacientes	Método	Intervalo de referência em µg/L [7]
Adultos	Radioimunoensaio	0,02 - 0,15
Por ACTH	Radioimunoensaio	< 0,55

Intervalos de referência para dehidroepiandrosterona (DHEA) (N.E.: não especificado):

População de pacientes	Método	Intervalo de referência em µg/L [8]	
		Homem	Mulher
0 - 1 dia	N.E.	3,2 - 11	4,6 - 12
1 - < 7 dias	N.E.	0,9 - 8,7	1,2 - 9,3
7 - 28 dias	N.E.	0,45 - 5,8	0,9 - 5,8
1 - 12 meses	N.E.	0,09 - 2,9	0,17 - 1,7
1 - < 4 anos	N.E.	0,12 - 0,9	0,2 - 0,45
P1*	N.E.	0,25 - 3	0,12 - 2
P2*	N.E.	0,5 - 5,8	0,6 - 17
P3*	N.E.	1,3 - 6,4	1,25 - 19
P4*	N.E.	1,9 - 7,3	1,7 - 17
P5*	N.E.	2,3 - 7,3	2,2 - 8,1
Adultos	N.E.	1,8 - 12,5	1,3 - 9,8

*P = estágio puberal

Intervalos de referência para dehidroepiandrosterona sulfato (DHEAS):

População de pacientes	Método	Intervalo de referência em µg/L [2]	
		Homem	Mulher
Crianças			
1 - 7 dias	Imunoensaio	855 - 4227	656 - 4717
8 - 15 dias	Imunoensaio	302 - 1758	335 - 3497
16 dias a 3 anos	Imunoensaio	74 - 991	74 - 1227
4 - 6 anos	Imunoensaio	74 - 2277	74 - 468
7 - 8 anos	Imunoensaio	77 - 1187	107 - 785
9 - 10 anos	Imunoensaio	147 - 884	125 - 1942
11 anos	Imunoensaio	195 - 1912	85 - 999
12 anos	Imunoensaio	118 - 3733	247 - 2255
13 anos	Imunoensaio	136 - 2889	214 - 1691
14 anos	Imunoensaio	140 - 2996	221 - 3265
15 anos	Imunoensaio	520 - 4403	324 - 3508
16 anos	Imunoensaio	302 - 3644	560 - 3851
17 anos	Imunoensaio	999 - 3442	855 - 4050
18 - 19 anos	Imunoensaio	1035 - 4750	1426 - 4367
ADULTOS		HOMEM	MULHER
		99 - 6154	-
Reprodutivo	Imunoensaio	-	≤ 5269
Pós-menopausa	Imunoensaio	-	≤ 1179

Intervalos de referência para dehidrotestosterona (DHT) (N.E.: não especificado):

População de pacientes	Método	Intervalo de referência [ng/l] [9]	
		Homem	Mulher
Idade			
Prematuros	N.E.	100 - 530	20 - 130
Bebês	N.E.	50 - 600	< 20 - 150
1 - 7 meses	N.E.	*	**
Criança em estágio pré puberal	N.E.	< 30	< 30
Estágio de desenvolvimento puberal			
1 (< 9,8 anos)	N.E.	< 30	< 30
2 (9,8 - 14,5 anos)	N.E.	30 - 170	50 - 120
3 (10,7 - 15,4 anos)	N.E.	80 - 330	70 - 190
4 (11,8 - 16,2 anos)	N.E.	220 - 520	40 - 130
5 (12,8 - 17,3 anos)	N.E.	240 - 650	30 - 180
Intervalo de referência [10]			
Homem	N.E.	250 - 750	
Mulher	N.E.	50 - 300	

*DHT diminui rapidamente na primeira semana e, em seguida aumenta para 120-850 ng/L entre 30-60 dias. Depois, os níveis diminuem gradualmente para valores de estágio pré puberal por sete meses.

** Níveis diminuem durante o primeiro mês a <30 ng/L e mantem-se nesta faixa até a puberdade.

Intervalos de referência para estradiol (N.E.: não especificado):

População de pacientes	Métodos	Intervalo de referência em ng/L [2]	
		Homem	Mulher
Crianças			
1 - 7 dias	Imunoensaio	< 5,4 - 62,4	6,8 - 31,6
8 - 15 dias	Imunoensaio	8,4 - 34,3	11,4 - 36,5
16 dias a 3 anos	Imunoensaio	< 5,4 - 17,7	5,7 - 30,8
4 - 6 anos	Imunoensaio	7,9 - 33,0	< 5,4 - 22,1
7 - 8 anos	Imunoensaio	< 5,4 - 22,6	6,3 - 24,0
9 - 10 anos	Imunoensaio	< 5,4 - 22,1	< 5,4 - 47,9
11 anos	Imunoensaio	7,6 - 30,0	9,0 - 51,2
12 anos	Imunoensaio	7,1 - 35,7	< 5,4 - 60,2
13 anos	Imunoensaio	5,4 - 63,2	< 5,4 - 42,8
14 anos	Imunoensaio	6,0 - 74,4	11,4 - 147,4
15 anos	Imunoensaio	< 5,4 - 82,3	6,8 - 247,6
16 anos	Imunoensaio	10,9 - 37,3	20,7 - 231,3
17 anos	Imunoensaio	10,9 - 37,3	13,3 - 138,1
18 - 19 anos	Imunoensaio	7,6 - 35,1	14,4 - 187,4
Adultos		Homem	Mulher
	N.E.	< 50,1	-
Folículo	N.E.	-	50,1 - 144,9
Ovulação	N.E.	-	111,9 - 442,9
Luteal	N.E.	-	50,1 - 241,1
Pós-menopausa	N.E.	-	< 59,1

Intervalos de referência para 17 α -hidroxiprogesterona:

POPULAÇÃO DE PACIENTES	Método	Intervalo de referência [µg/L] [7]
Adultos	Radioimunoensaio	0,2 - 2,2
Mulheres (pós-menopausa)	Radioimunoensaio	0,05 - 0,5
Prematuros	Radioimunoensaio	2,5 - 20
Recém-nascidos	Radioimunoensaio	< 3
Crianças de 1 - 12 meses	Radioimunoensaio	0,07 - 2
Crianças de 1 - 10 anos	Radioimunoensaio	0,03 - 0,9
Crianças de 10 - 17 anos	Radioimunoensaio	0,1 - 2,2

Intervalos de referência para progesterona (N.E.: não especificado):

População de pacientes	Método	Intervalo de referência [µg/l] [2]	
		Homem	Mulher
Crianças			
1 - 7 dias	Imunoensaio	0,31 - 3,93	0,25 - 3,11
8 - 15 dias	Imunoensaio	0,31 - 2,58	0,31 - 1,48
16 dias a 3 anos	Imunoensaio	0,09 - 1,13	0,09 - 1,01
4 - 6 anos	Imunoensaio	0,13 - 2,74	0,09 - 1,10
7 - 8 anos	Imunoensaio	0,22 - 1,10	0,25 - 1,13
9 - 10 anos	Imunoensaio	0,13 - 1,23	0,13 - 1,10
11 anos	Imunoensaio	0,22 - 1,13	0,35 - 0,94
12 anos	Imunoensaio	0,31 - 1,60	0,47 - 1,86
13 anos	Imunoensaio	0,38 - 1,51	0,38 - 1,51
14 anos	Imunoensaio	0,35 - 1,29	0,47 - 13,11
15 anos	Imunoensaio	0,63 - 3,02	0,47 - 14,37
16 anos	Imunoensaio	0,69 - 4,56	0,57 - 14,75
17 anos	Imunoensaio	0,69 - 2,17	0,72 - 12,96
18 - 19 anos	Imunoensaio	1,16 - 3,02	1,19 - 13,58
Adultos		Homem	Mulher
	N.E.	< 0,19 - 1,40	-
Folículo	N.E.	-	< 0,19 g/L
Meados da fase lútea	N.E.	-	2,99 - 20,0
Pós-menopausa	N.E.	-	< 0,94

Intervalos de referência para testosterona:

População de pacientes	Método	Intervalo de referência [µg/l] [7]	
		Homem	Mulher
Adultos	Radioimunoensaio	2,5 - 10	0,2 - 0,8
Prematuros	Radioimunoensaio	< 2	< 0,22
Recém-nascidos	Radioimunoensaio	< 4	< 0,65
Crianças de 1 - 5 meses	Radioimunoensaio	0,1 - 4	-
Crianças de 6 meses - 9 anos (masculino)	Radioimunoensaio	0,02 - 0,2	-
Crianças de 2 meses - 9 anos (feminino)	Radioimunoensaio	-	0,02 - 0,2
Crianças de 10 - 16 anos	Radioimunoensaio	0,1 - 9,5	0,02 - 0,8

LITERATURA

1. World Health Organization. (2002) Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations & Stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2
2. Thomas L (Hrsg). Labor und Diagnose. 8. Aufl, Verlag TH-Books Frankfurt/Main (2012).
3. Kushnir MM, Rockwood AL, Roberts WL, Pattison EG, Owen WE, Bunker AM, Meikle AW. (2006) Development and performance evaluation of a tandem mass spectrometry assay for 4 adrenal steroids. *Clin Chem* 52(8): 1559-67.
4. Evans MJ, Livesey JH, Ellis MJ, Yandle TG. (2001) Effect of anticoagulants and storage temperatures on stability of plasma and serum hormones. *Clin Biochem* 34(2): 107-12.
5. Thomas L (Hrsg). Labor und Diagnose. 7. Aufl, Verlag TH-Books Frankfurt/Main (2008).
6. Soldin SJ, Wong EC, Brugnara C, Soldin OP (Ed). Androstenedione. In: Pediatric Reference Intervals. 7th edition, pp 35-7. AACC Press Washington DC (2011).
7. Uni Heidelberg (Medizinische Fakultät\Pharmakologisches Institut\Steroidlabor) http://www.medizinische-fakultaet-hd.uni-heidelberg.de/fileadmin/inst_pharmakologie/pdf/Steroidlabor/Normalwerte2014.pdf

8. Soldin SJ, Wong EC, Brugnara C, Soldin OP (Ed). Dehydroepiandrosterone (DHEA). In: Pediatric Reference Intervals. 7th edition, pp 90-1. AACC Press Washington DC (2011).
9. Soldin SJ, Wong EC, Brugnara C, Soldin OP (Ed.). Dihydrotestosterone (DHT). In: Pediatric Reference Intervals. 7th edition, pp 98. AACC Press Washington DC (2011).
10. Shackleton C. Genetic disorders of steroid metabolism diagnosed by mass spectrometry. In: Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics, pp 549-606. Springer-Verlag Berlin/ Heidelberg (2008)

Símbolos Usados



Fabricado por: Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH

Importado e Distribuído por: BioSys Ltda

Rua Coronel Gomes Machado, 358, Centro, Niterói, RJ

Cep: 24020-112

CNPJ: 02.220.795/0001-79

MS – nº 10350840294

SAC: sac@biosys.com.br – (21) 3907-2534 / 0800 015 1414

www.biosys.com.br