

**Der Testosteronspiegel -  
Messung und analytische  
Bewertung**

Schönicke G, Junge M

*Blickpunkt der Mann 2006; 4*

*(Sonderheft 1), 19-22*

**Homepage:**

**[www.kup.at/dermann](http://www.kup.at/dermann)**

**Online-Datenbank mit  
Autoren- und Stichwortsuche**

**Krause & Pachernegg GmbH  
Verlag für Medizin und Wirtschaft  
A-3003 Gablitz**

Verlagspostamt: 3002 Purkersdorf  
Erscheinungsort: 3003 Gablitz

# DER TESTOSTERONSPIEGEL – MESSUNG UND ANALYTISCHE BEWERTUNG

Die heute in der Routinediagnostik eingesetzten und weitgehend automatisierten Verfahren zur Bestimmung der Testosteronkonzentration im Blut basieren auf immunologischen Methoden, die sich lediglich durch verschiedene Prinzipien – z. B. homogener oder heterogener Ansatz – und durch die Meßtechnik zur Quantifizierung der immunologischen Reaktion unterscheiden. Gängige Detektionsmarker sind Isotope (RIA), Enzyme (EIA, ELISA), Fluoreszenz- oder Chemilumineszenzverbindungen (z. B. ECLIA).

Wie sicher ist jedoch ein immunologisch bestimmter Testosteronwert bezüglich seiner Richtigkeit? Reflektiert die gemessene Testosteronkonzentration die exakte In-vivo-Konzentration? Die Antwort lautet: wenn ja, dann eher zufällig. Über die zahlreichen Faktoren, die Einfluß auf das Resultat einer Testosteronmessung haben, soll im folgenden referiert werden.

## 1. ANALYTISCHE FAKTOREN

Zur Beurteilung der diagnostischen Leistungsfähigkeit eines analytischen Verfahrens ist die Kenntnis verschiedener Testcharakteristika erforderlich. Die wichtigsten Kenngrößen zur Beschreibung der analytischen Leistungsfähigkeit von Meßverfahren sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Ein entscheidendes Qualitätskriterium einer Testosteronmethode ist

Tabelle 1: Kriterien der analytischen Leistungsfähigkeit eines Meßverfahrens

1. Selektivität (Spezifität)
2. Richtigkeit
3. Präzision
4. Nachweisgrenze
5. Funktionelle Sensitivität
6. Linearität
7. Meßbereich

deren Selektivität (Spezifität), also das Vermögen, unter zahlreichen, chemisch sehr ähnlichen Androgenen, die sich im Blut befinden, ausschließlich Testosteron zu erfassen. Es ist naheliegend, daß die Selektivität bei Immunverfahren entscheidend von der Spezifität des verwendeten Antikörpers bestimmt wird. Eine absolute Selektivität gibt es selbst bei modernen Testosteron-Immunoassays nicht, die Kreuzreaktionen sind jedoch so gering, daß sie für die Praxis nicht von Bedeutung sind. Antikörper verschiedener Hersteller zeigen allerdings durchaus unterschiedliche Kreuzreaktivitäten: Dihydrotestosteron, das bedeutendste kreuzreagierende Androgen, interferiert in den kommerziellen Verfahren zwischen 1,9 und 5,4 %.

Wie bei allen quantitativen Immunoassays muß das Meßsignal der immunologischen Reaktion zur Antigenkonzentration der Probe quantitativ ins Verhältnis gesetzt werden. Das Verfahren wird also kalibriert, und zwar mit einer Methode, die mit großer Annäherung den wahren Wert des Testosterons bestimmen kann. Derzeit international anerkannte Referenzmethode für die Testosteronbestimmung im Serum ist

die Isotopenverdünnungs-Massenspektrometrie (ID-GCMS), mit der eine sog. Referenzstandardisierung der Immunverfahren vorgenommen wird: Humanseren mit Testosteronkonzentrationen, die den gesamten physiologischen Konzentrationsbereich abdecken, werden mittels der Referenzmethode analysiert und als sog. Masterkalibratoren für die Standardisierung des Immunoassays verwendet. Die Richtigkeit der immunologischen Testosteronbestimmung wird also durch die Rückführbarkeit der Analyseergebnisse auf die Referenzmethode zumindest theoretisch gewährleistet.

Diese Vorgehensweise verhindert nun keineswegs, daß jedes immunologische Testosteronergebnis eine mehr oder weniger große Meßunsicherheit aufweist. Dies ist durch 2 Arten von Fehlern bedingt: Zum einen durch die systematischen Fehler, die eine Abweichung vom Referenzmethodenwert (Unrichtigkeit, Bias) verursachen und verschiedene Gründe haben können (z. B. fehlerhafte oder instabile Kalibration, Reagenzienwechsel, Unspezifität der Methode, Matrixeffekte der Probe). Zum anderen durch die sog. zufälligen Fehler, die durch

Abbildung 1: Das Gesamtfehler-Konzept

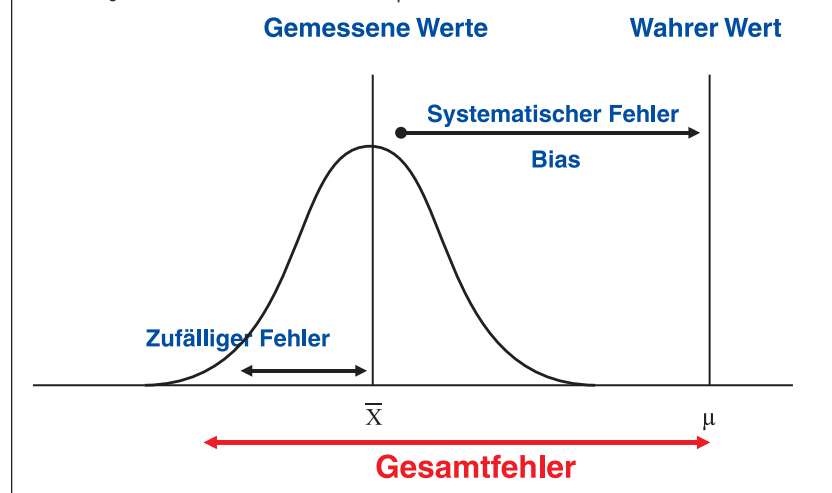


Tabelle 2: Konsequenz der Impräzision immunologischer Testosteronbestimmungen

Meßwert Testosteron 12 nmol/l, VK = 6 %  
Somit liegt der tatsächliche Wert mit einer Wahrscheinlichkeit von 68,3 % zwischen 11,3 und 12,7 95,5 % zwischen 10,6 und 13,4 99,7 % zwischen 9,8 und 14,2

technische Ungenauigkeiten entstehen, unvermeidbar sind und daher statistisch eine Normalverteilung aufweisen. Das Ausmaß zufälliger Fehler wird durch Bestimmung der Impräzision einer Methode quantifiziert.

Die Meßunsicherheit ergibt sich also aus der Summe von Unrichtigkeit und Impräzision. Abbildung 1 illustriert diese Beziehung. Eine Unrichtigkeit läßt sich bei der immunologischen Analyse einer Serumprobe nicht erkennen, da deren wahre Testosteronkonzentration nicht bekannt ist. Sie könnte nur durch eine Vergleichsmessung mit der Referenzmethode ermittelt werden. Die Richtigkeit immunologischer Testosteronmessungen ist bei Konzentrationen, wie sie bei gesunden Männern zu finden sind, recht gut. Sie ist aber unzureichend und unakzeptabel im diagnostisch interessanten, niedrigen Bereich, wie zahlreiche Vergleichsstudien in jüngster Zeit gezeigt haben [1–6].

Die Impräzision von Testosteronbestimmungen als Maß der Reproduzierbarkeit eines Analyseergebnisses liegt, abhängig von der Höhe des Testosteronspiegels, zwischen ca. 2 % im oberen und 7,5 % im subnormalen Meßbereich, ausgedrückt als Variationskoeffizient (VK, Standardabweichung in Prozent vom Mittelwert einer Analysenserie). Im Entscheidungsbereich von 12 nmol/l werden Variationskoeffizienten von 5–7 % mit immunologischen Verfahren erreicht. Dies bedeutet, daß bei einem Meßwert von 12 nmol/l

Tabelle 3: Qualitätsanforderung der Rilibäk an die Testosteronmessung

Richtigkeit ermittelt durch ID-GCMS	
Max. zulässige Unrichtigkeit (Bias)	16 %
Max. zulässige Impräzision (VK)	13 %
Max. zulässige Abweichung (2 x VK + Bias)	42 %

Tabelle 4: Ringversuch INSTAND Januar 2006

Testosteron: 208 Teilnehmer

Zielwert	Bereich	Teilnehmer	Bestehensquote	
[nmol/L] (±42 %)	MW	VK	[%]	
11,1	6,4–15,8	13,6	12,9	<b>80,8</b>
13,0	7,5–18,5	16,1	12,7	

und einem VK von 6 % der Wert zwischen 9,8 und 14,2 nmol/l liegen kann, was einer Bandbreite von insgesamt 36 % entspricht (Tab. 2). Schon eine relativ geringe Unrichtigkeit kann – wenn sie sich zur Impräzision additiv verhält – den Gesamtfehler einer Analyse auf 50 % steigern.

Vergegenwärtigt man sich das theoretisch mögliche Ausmaß des Fehlers einer Einzelmessung, wird klar, warum nach den Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (Rilibäk) die maximal zulässige Abweichung eines Testosteronresultats vom Referenzmethodenwert ganze 42 % betragen darf (Tab. 3) – ein auf den ersten Blick großzügiges Angebot, das jedoch nur der analytischen Qualität der angebotenen kommerziellen Tests entspricht. Es ist dennoch überraschend, daß beim letzten Ringversuch 20 % der Teilnehmer, das sind 40 Laboratorien, den Zielbereich (6,4–15,8 bzw. 7,5–18,5 nmol/l) verfehlt haben (Tab. 4).

## 2. EINFLUSS BIOLOGISCHER VARIABILITÄT

Unter diesem Begriff werden Konzentrationsschwankungen von Blutbestandteilen verstanden, die einer physiologisch bedingten tages-, monats- oder jahresrhythmischen Veränderung unterliegen, oder die sich altersabhängig ändern, also in gewisser Hinsicht systematisch sind. Die Tagesrhythmik der Testosteronkonzentration ist hinlänglich bekannt und verlangt eine morgendliche Blutentnahme für die Messung des Hormons (nach einer neueren Studie wird das Hormon offenbar vom Wach-Schlaf- und nicht vom Tag-Nacht-Rhythmus gesteuert).

Tabelle 5: Biologische Variabilität des Testosteronspiegels (nach [Politi J, Fuentes-Arderiu X. Clin Chem 1993; 39: 1723])

**9,3 %:**

**Wie wurde diese Zahl ermittelt?**

- 20 männliche, gesunde Probanden
- Monatliche, standardisierte Blutentnahme über 1 Jahr
- Lagerung der Proben bei –80°C
- Messung aller Proben in einer Analysenserie
- Berechnung der Variabilität jeder Probandenserie (12 Serien)
- Korrektur um die analytische, serielle Impräzision ergibt: Intra-individuelle Schwankung der Testosteronkonzentration

Tabelle 6: Beispiele intra-individueller Variabilität (nach [7])

Natrium	0,7 %
Osmolalität	1,3 %
Kalium	4,8 %
Cholesterin	6,0 %
Testosteron	9,3 %
SHBG	12,1 %
PSA	14,0 %
GPT/ALT	24,3 %

Ausgedrückt als Variationskoeffizient. Alle Daten von Gesunden.

Tabelle 7: Konsequenz der Gesamtvariabilität einer Testosteronmessung

**Meßwert Testosteron 12 nmol/l,**  
**CV<sub>ana+bio</sub> = 11,1 %**

Somit liegt der Wert mit einer Wahrscheinlichkeit von  
68,3 % zwischen 10,7 und 13,3  
95,5 % zwischen 9,4 und 14,6  
99,7 % zwischen 8,0 und 16,0

Nimmt man nun einem Probanden zu mehreren Zeitpunkten im wöchentlichen oder monatlichen Abstand immer zur gleichen Tageszeit eine Probe ab, wird dann der Testosteronspiegel immer gleich sein? Natürlich ist die Antwort hierauf Nein. Der Testosteronspiegel eines Individuums weist eine zufällige Verteilung auf, die um seinen individuellen Mittelwert streut, und dieser ist für die Diagnostik eigentlich relevant. Diese Form der biologischen „Impräzision“ nennt man intra-individuelle Variabilität, die durch diverse physiologische oder auch unphysiologische Einflüsse bewirkt wird. Sie ist für zahlreiche Meßgrößen des Blutes experimentell ermittelt worden und beträgt für Testosteron 9,3 %, ausgedrückt wiederum als Variationskoeffizient und berechnet aus der beobachteten Verteilung bei gesunden Männern. In Tabelle 5 ist kurz das Vorgehen zur Bestimmung dieses Wertes dargestellt, Tabelle 6 gibt einige Beispiele für die Streuung weiterer Parameter [7].

In Analogie zur Betrachtung bei der analytischen Streuung kann aus rein biologischer Perspektive für einen Meßwert von 12 nmol/l folgende Feststellung getroffen werden: Mit 68,3 % Wahrscheinlichkeit liegt der mittlere Patienten-Wert zwischen 10,9 und 13,1, mit 95,5 % zwischen 9,8 und 14,3 und mit 99,7 % Wahrscheinlichkeit zwischen 8,7 und 15,3 nmol/l. Hierzu muß nun noch analytische addiert werden: die Gesamtstreuung VKg aus analytischer (VKa = 6 %) und biologischer Varia-

bilität (VKb = 9,3 %) ergibt sich mit 11,1 % (VKgesamt =  $\text{SQR}(\text{VKa} + \text{VKb})$ ). Im genannten Beispiel von 12 nmol/l beträgt der üblicherweise 2 Standardabweichungen umfassende und als signifikant angesehene Bereich (95 %) somit immerhin 7,8 bis 12,2 nmol/l (Tab. 7).

Es ist leicht einzusehen, daß nur eine Verbesserung der analytischen Präzision eine Qualitätsverbesserung in diagnostischer Hinsicht bringen würde, da die intra-individuelle Variabilität naturgemäß nicht verändert werden kann.

### 3. PRÄANALYTISCHE EINFLÜSSE AUF DIE TESTOSTERONMESSUNG

Mit der Entscheidung, einem Patienten für eine Testosteronbestimmung Blut zu entnehmen, beginnt die sog. präanalytische Phase dieser Untersuchung. Sie beinhaltet die Vorbereitung des Patienten, die Technik der Venenpunktion sowie die Aufbereitung, Lagerung und ggfs. den Versand der Probe. Bei jedem dieser Teilschritte kann es zu Veränderungen der Probe, also zu Fehlern kommen, durch die der gemessene Wert nicht mehr der wahren, intravasalen Testosteronkonzentration des Patienten entspricht. Diese Fehler sind übrigens oft deutlich größer als die durch analytische Streuung bedingten und haben den Nachteil, daß sie mit der üblichen Qualitätskontrolle nicht erkannt werden können. Deswegen muß es Ziel aller präanalytischen Maßnahmen sein, eine Probe der Analyse zuzuführen, deren Zusammensetzung möglichst identisch ist mit dem Material, daß durch das Gefäßsystem des Patienten fließt.

Das Dilemma beginnt aber nun schon damit, daß dieses Ziel schon aus rein praktischen Gründen von vornherein aufgegeben wird: durch keines Patienten Adern fließt Serum!

Serum, das bevorzugte Untersuchungsmaterial im medizinischen Laboratorium, ist ein Artefakt und alle gelösten Blutbestandteile mit Ausnahme der Gerinnungsproteine haben im Serum eine höhere Konzentration als im Plasma. Der durch die Verwendung von Serum bedingte Fehler ist allerdings mehr von prinzipieller denn von quantitativer Bedeutung.

Einen bedeutsamen Effekt auf die Konzentration vieler Blutbestandteile haben nun 2 Einflußgrößen, auf die näher eingegangen werden soll, da sie gut kontrollierbar sind: Es ist zum einen die Körperposition des Patienten bei der Blutentnahme und die Art und Dauer der Venenstauung.

Schon vor fast 100 Jahren wurde von einem Kieler Internisten beschrieben [8], daß die Serumeiweißkonzentration bei aufrechter Körperposition etwa 10–15 % höher als in liegender Position ist. Der Grund ist, daß beim Wechsel vom Liegen zum Stehen durch hydrostatische und osmotische Effekte Plasmawasser aus dem Intravasalraum in das Interstitium gedrückt wird und zwar vornehmlich am arteriellen Ende der Kapillaren. Deren Endothel wirkt wie ein Filter und hält alle großmolekularen Bestandteile in der Blutbahn zurück, also Zellen und Proteine, die dadurch intravasal konzentriert werden. Dieser Effekt wirkt sich ebenfalls auf alle kleinen Moleküle aus, wenn sie an Serumproteine gebunden sind, z. B. Eisen, Kalzium, Cholesterin, Steroidhormone inklusive das gebundene Testosteron – nicht aber das freie Hormon, das wie Natrium, Kalium, Chlorid oder Harnstoff die Kapillarmembran ungehindert passieren kann.

Die Venenstauung mittels Staubinde führt zum prinzipiell gleichen Effekt wie der Übergang vom Liegen zum Stehen: der gestoppte venöse Abfluß resultiert durch den weiteren

Tabelle 8: Änderung der Cholesterinkonzentration durch Lageänderung und Venenstauung

Stehend über 30 min, Venenstauung über 5 min	242 mg/dl
Liegend über 20 min, Keine Venenstauung	190 mg/dl
<b>Differenz: 22 %</b>	

arteriellen Blutzufuß in einer Erhöhung des hydrostatischen Drucks in den Kapillaren distal zur venösen Okklusion, was wiederum einen Austritt von Plasmawasser in das Interstitium zur Folge hat. Untersuchungen an Gesunden haben gezeigt, daß pro Minute Stauung die intravasale Konzentration von hochmolekularen Blutbestandteilen um ca. 2 % ansteigt.

In Tabelle 8 ist das Ergebnis eines Versuches dargestellt, in dem beide Konzentrierungseffekte in sich ergänzender Weise kombiniert wurden: der durch Stehen und 5-minütige Stauung bedingte Anstieg von Cholesterin betrug immerhin 22 %, ähnlich würde sich auch der Testosteronspiegel ändern. Auch an diesen Effekt muß bei der Bewertung von Laboranalysen gedacht werden. Er läßt sich allerdings durch eine standardisierte Blutentnahmetechnik weitgehend vermeiden: Vor der Punktion sollte der Patient 15 Minuten liegen oder sitzen, und die Venenstauung sollte 1 Minute nicht überschreiten.

## FAZIT

Die derzeitigen immunologischen Verfahren zur Testosteronmessung erfüllen nur unzureichend die diagnostisch erforderliche analytische Qualität. Wünschenswert wäre die Entwicklung eines „ultrasensitiven“ Verfahrens – so wie es bei den TSH-Methoden vor einigen Jahren gelang – da fast ausschließlich der Konzentrationsbereich nahe Null klinisch und diagnostisch relevant ist.

Die Meßunsicherheit der Testosteronbestimmung sollte auch zur Konsequenz haben, daß die mathematischen Modelle zur Abschätzung des freien oder bioverfügbaren Testosterons sehr kritisch bewertet werden, zumal die Meßunsicherheit der SHBG-Messung als zusätzliche Fehlerkomponente anzusehen ist.

Die angeführten Beispiele über theoretisch mögliche Variationsbreiten sollen nun nicht dazu verleiten, Testosteronresultaten überhaupt nicht mehr zu trauen. In der Regel verhalten sich nämlich die beschriebenen Fehler nicht additiv, sondern können sich sogar kompensieren. Streng genommen ist der Begriff Fehler in diesem Kontext ohnehin unpassend – die beschriebenen Effekte sind lediglich Ausdruck der Unschärfe von Natur und menschlichem Handeln.

## Literatur:

1. Matsumoto AM, Bremner WJ. Serum testosterone assay – accuracy matters. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 520–4.
2. Miller KK, Rosner W, Lee H, Hier J, Sessimo G, Schoenfeld D, Neubauer G, Klibanski A. Measurement of free testosterone in normal women and women with androgen deficiency: comparison of methods. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 525–33.
3. Wang C, Catlin DH, Demers LM, Starcevic B, Swerdloff RS. Measurement of total serum testosterone in adult men: comparison of current laboratory methods versus liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 520–4.
4. Sacks SS. Are routine testosterone assays good enough? *Clin Biochem Rev* 2005; 26: 43–5.
5. Cawood ML, Field HP, Ford CG, Gillingwater S, Kicman A, Cowan D, Barth JH. Testosterone measurement by isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry: validation of a method for routine clinical practice. *Clin Chem* 2005; 51: 1472–9.
6. Taieb J, Mathian B, Millot F, Patricot MC, Mathieu E, Queyrel N, Lacroix I, Sommadelpero C, Boudou P. Testosterone measured by 10 immunoassays and by isotope-dilution gas chromatography-mass spectrometry in sera from 116 men, women, and children. *Clin. Chem* 2003; 49: 1381–95.
7. Fraser CG. *Biological variation: From principles to practice*. AACC Press, Washington D.C., USA, 2001.
8. Böhme A. Über die Schwankungen der Serumkonzentration beim gesunden Menschen. *Deutsches Archiv Klin* 1911; 103: 522.

## Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. med. Wolfgang Junge  
Laboratorium für Klinische  
Forschung GmbH  
D-24223 Raisdorf,  
Lise-Meitner-Straße 25–29  
E-mail: project@lkf-kiel.de

# Mitteilungen aus der Redaktion

## Besuchen Sie unsere zeitschriftenübergreifende Datenbank

[Bilddatenbank](#)

[Artikeldatenbank](#)

[Fallberichte](#)

## e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

[Bestellung e-Journal-Abo](#)

## Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

[Impressum](#)

[Disclaimers & Copyright](#)

[Datenschutzerklärung](#)