

Bio-Androestenediona

Inmunoensayo enzimático para la cuantificación de la Hormona Androestenediona en suero o plasma.

INTENCIÓN DE USO

Para uso exclusivo en investigación. No debe utilizarse en los procedimientos de diagnóstico.

MATERIALES PROVISTOS	96 Pruebas
1. Pocillos revestidos con anti-Conejo IgG	12x8x1
2. Conjunto estándar, 6 viales (listo para su uso)	0.5 ml
3. Conjugado enzimático (listo para su uso)	7 ml
4. Anti Androestenediona reactivo: (listo para su uso)	7 ml
5. Sustrato TMB (listo para su uso)	12 ml
6. Solución de Paro: (listo para su uso)	12 ml
7. Solución de Lavado: 1 botella (20X)	25 ml

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

1. Agua destilada o desionizada.
2. Pipetas de precisión.
3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector Microelisas con lente a 450 nm.
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadrículado.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Almacene el kit a 2 - 8°C.
2. Mantenga las tiras de los pocillos selladas en una bolsa seca con desecantes.
3. Todos los compuestos son estables hasta su fecha de expiración siempre y cuando las condiciones de almacenaje sean estrictamente llevadas a cabo como aquí se indica.
4. No exponga los reactivos al calor, luz solar o intensa luz eléctrica.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso exclusivo en investigación. No debe utilizarse en los procedimientos de diagnóstico.
2. Para uso en laboratorio.
3. No es para uso interno o externo en seres humanos o animales.
4. No debe haber ningún comer o beber en el área de trabajo.
5. Siempre use guantes y una bata de laboratorio protectora.
6. No pipetear debe hacerse por vía oral. Manipular todas las muestras y reactivos como potencialmente infeccioso y riesgo biológico.
7. No añadir azida de sodio a las muestras como conservante.
8. No utilice los controles externos que contienen azida de sodio.
9. Utilizar puntas de pipeta desechable para evitar la contaminación del reactivo sustrato cromogénico. Desechar el reactivo si se vuelve azul.
10. No vierta sustrato cromogénico de nuevo en el recipiente después de su uso.
11. No congelar los reactivos.
12. No mezclar reactivos de distintos lotes de kit.
13. Mantener los reactivos de la luz solar directa.
14. Manipular con cuidado, ya que es corrosivo.
15. Mantener los reactivos a temperatura ambiente.
16. Muestras forenses viscosas siempre deben ser diluidas en tampón fosfato salino o agua destilada antes de dispensar.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

1. Recolecte sangre por venopunción y separe el suero de inmediato.
2. En caso de no llevar a cabo el examen inmediatamente, refrigere la muestra a (2-8°C) por una semana. En caso de exceder dicho plazo, congele a -20°C hasta un mes.
3. Evite múltiples ciclos de congelamiento-descongelamientos de la muestra.
4. Previo al ensayo, la muestra deberá ser debidamente descongelada y mezclada.
5. Evite utilizar muestras con exceso de lípidos.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. **20XWash Buffer:** Preparar tampón de lavado 1X añadiendo el contenido de la botella (25 ml, 20X) a 475 ml de agua destilada o desionizada. Conservar a temperatura ambiente (20-25°C).

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Todos los reactivos y las muestras se les debe permitir que alcancen la temperatura ambiente antes de su uso. Todos los reactivos deben ser mezclados sin formar espuma. Una vez que se ha iniciado la prueba, todos los pasos deben ser completados sin interrupción.

1. Asegure el número deseado de tiras de micropocillos en el soporte.
2. Dispensar 25 µl Normas de Androestenediona, controles y muestras en los pozos apropiados.
3. Dispensar 50 µl de conjugado de enzima en cada pocillo.
4. Dispensar 50 µl de reactivo anti-Androestenediona en cada pocillo.
5. Incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente con agitación.
6. enérgicamente agitar el contenido de los pocillos. Lavar los pocillos 3 veces con solución de lavado diluida. La huelga de los pozos fuertemente en papel absorbente para eliminar las gotas de agua residuales.

NOTA: La sensibilidad y la precisión de este ensayo es marcadamente influenciados por el correcto funcionamiento del procedimiento de lavado.

7. Añadir 100 µl de solución de sustrato a cada pocillo.
8. Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
9. Se detiene la reacción enzimática mediante la adición de 50 µl de solución de paro en cada pocillo.
10. Leer la absorbancia en el lector de ELISA a 450 nm dentro de los 15 minutos después de añadir la solución de paro.

CÁLCULO DE RESULTADOS

1. Calcular los valores de absorbancia media para cada conjunto de estándares, controles y muestras de pacientes
2. Construir una curva estándar trazando la absorbancia media obtenida de cada estándar frente a su concentración en ng / ml con valor de absorbancia en el eje vertical (Y) y la concentración en el eje horizontal (X).
3. Utilizando el valor de absorbancia media para cada muestra, determinar la concentración de Androestenediona de la curva estándar. Dependiendo de la experiencia y/o la disponibilidad de la capacidad del ordenador, se pueden emplear otros métodos de reducción de datos.
4. Método automatizados: Los programas de ordenador utilizando splines cúbicos, 4 PL (4 Logística de parámetros) o logit-log pueden dar un buen ajuste.
5. La concentración de las muestras se puede leer directamente de la curva estándar. Las muestras con una concentración de Androestenediona mayor que la concentración del más alto nivel tienen que ser diluidas con el estándar cero. Para el cálculo de las concentraciones de este factor de dilución tiene que ser tenido en cuenta.

EJEMPLO DE CURVA ESTÁNDAR

Estándar 1	Conc. µg/mL	OD 450 nm
Std 1	2.132	0
Std 2	1.705	0.12
Std 3	1.324	0.37
Std 4	0.811	1.11
Std 5	0.314	3.33
Std 6	0.171	10

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. No utilice azida de sodio como conservante. La azida de sodio inhibe la actividad de las enzimas HRP.

REFERENCIAS

1. Horton R., Tait J., Androstenedione production and interconversion rates measured in peripheral blood and studies on the possible site of its conversion to testosterone. J.Endocrinol Invest. 45: 301-313, 1966.
2. Dorfman RI., Shipley RA., Androgens. John Wiley and Sons, New York, 116-128, 1956
3. Erickson GF 1993 Normal regulation of ovarian androgen production. Seminars in Reproductive Endocrinology 11:307-312. Kicman, A. T., Bassindale, T., Cowan, D. A., Dale, S., Hutt, A. J., and Leeds, A. R., Effect of androstenedione ingestion on plasma testosterone in young women; a dietary supplement with potential health risks Clin.Chemistry 2003; 49:167-169.
4. Brown, G.A., Vukovich, M.D., Martini, E.R., Kohut, M.L., Franke, W.D., Jackson, D.A., and King, D.S. Endocrine responses to chronic androstenedione intake in 30- to 56-year-old men. J Clin Endocrinol Metab 2000, 85:4074-4080.