

## 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, 7 viales (listo para su uso)	0.25 ml
3. Reactivo enzimático DHEA-S: 1 botella (listo para su uso)	6 ml
4. Anti DHEA-S reactivo de anticuerpos: 1 botella (listo para su uso)	6 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

- Pipetas de precisión.
- Puntas de pipetas desechables.
- Lector Microelisas con lente a 450 nm.
- Mezclador Vórtex de cabeza plana.
- Plato agitador.
- Papel cuadriculado.

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Para uso exclusivo en investigación. No debe utilizarse en los procedimientos de diagnóstico.
- Para uso en laboratorio.
- Los materiales de potencial riesgo biológico:  
El calibrador y los controles contienen componentes de origen humano que han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de la hepatitis B, así como de anticuerpos del VIH con reactivos con licencia FDA. Sin embargo, no existe un método de prueba que puede garantizar la completa seguridad de que el virus del VIH, la hepatitis B u otros agentes infecciosos. Estos reactivos deben ser manipulados en el nivel 2 de bioseguridad, como se recomienda en los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de Salud de Estados.
- No pipetear con la boca. No fumar, comer o beber en las áreas en las que las muestras o los reactivos del kit se manipulen.
- Los componentes de este kit están destinados para su uso como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no deben ser mezclados.
- Se recomienda que las muestras de normalización, control y suero se realizaron por duplicado.
- Los resultados óptimos se obtienen mediante la estricta adhesión a este protocolo. Pipeteado exacto y preciso, así como después de los requisitos de tiempo y temperatura exactos prescritos son esenciales. Cualquier desviación de esto puede producir datos no válidos.

## RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

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

## PREPARACIÓN DEL REACTIVO

- 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 deben alcanzar la temperatura ambiente antes de su uso.

- Asegure el número deseado de tiras recubiertas en el soporte.
- Dispensar 10 µl de cada estándar, control y muestra con puntas nuevas en los pozos apropiados.
- Dispensar 50 µl de enzima DHEA -S en cada pocillo.
- Dispensar 50 µl del anticuerpo anti-DHEA-S en cada pocillo.
- Mezcle la placa durante 10 segundos. Es importante tener un mezclado completo en este paso.
- Incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente.
- Enérgicamente agitar el contenido de los pocillos.
- Lavar los pocillos 3 veces con solución de lavado diluido (350 µl por pocillo). Sacudir los pocillos fuertemente en papel absorbente para eliminar las gotas residuales.
- Añadir 100 µl de sustrato TMB en cada pocillo.
- Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.
- Parar la reacción enzimática mediante la adición de 50 µl de solución de parada en cada pocillo.
- Leer la absorbancia en el lector de ELISA a 450 nm dentro de los 10 minutos después de añadir la solución de paro.

## CÁLCULO DE RESULTADOS

La curva estándar se construye como sigue:

- Comprobar el valor estándar del reactivo DHEA-S en el vial estándar. Este valor puede variar de un lote a otro. Asegúrese de verificar el valor de cada kit. Véase el ejemplo de la norma adjunta.
- Para construir la curva estándar, trazar la absorbancia de los estándares de DHEA-S (eje vertical) frente a la concentración estándar (eje horizontal) en un papel milimetrado. Dibuje la mejor curva a través de los puntos.
- Leer la absorbancia de los controles y de cada muestra desconocida a partir de la curva. Registrar el valor de cada control o muestra desconocida.

---

---

### **EJEMPLO DE CURVA ESTÁNDAR**

Estándar 1	Conc. µg/mL	OD 450 nm
Std 1	0	2.02
Std 2	0.1	1.34
Std 3	0.5	0.95
Std 4	1	0.70
Std 5	2.5	0.40
Std 6	5	0.24

### **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. Ashby, J. and Frier, B.: Circulating C-Peptide: Measurement and Clinical Applications. *Annals of Clinical Biochemistry*. 18:125, 1981
2. Beischer, W.: Proinsulin and C-Peptide in Humans. *Hormones in Normal and Abnormal Human Tissues*. Volume 3K, Fotherby and Pal, S., ed. (Berlin: Walter DeGruyter). pp. 1-43, 1983
3. Beyer, J., Krause V., Cordes V.: C-Peptide: Its Biogenesis, Structure, Determination and Clinical Significance. *Giornale Italiano di Chimica Clinica* 4 Supp. 9:22, 1979
4. Bongner, A. and Garcia-Webb, P.: C-Peptide Measurement: Methods and Clinical Utility. *CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 19:297, 1984.
5. Chevenne D., Ruiz J., Lohmann L., et.al. Immunoradiometric Assay of Human Intact Proinsulin Applied to Patients with Type 2 Diabetes, Impaired Glucose Tolerance, and Clinical. *Chemistry*. 40/5:754, 1994
6. Bowsher R. R., Wolny J. D. and Frank B. H.: A Rapid and Sensitive Radioimmunoassay for the Measurement of Proinsulin in Human 2008-