

La reacción cruzada del anticuerpo calculado al 50% del método, según Abraham, se muestra en la tabla:

| Analito | % Reactividad cruzada |
|----------------------------|-----------------------|
| Androstenediona | 100 |
| Testosterona | 0.3486 |
| 5 alfa-Dihidrotestosterona | <0.0001 |
| Androsterona | 0.009 |
| DHEA-S | 0.0007 |
| Cortisol | <0.0001 |
| 17 α Estradiol | <0.0001 |
| Estrona | 0.0167 |
| Androsterona-SO4 | 0.0017 |
| Progesterona | 0.1091 |
| Desoxicorticosterona | 0.200 |

REFERENCIAS

- 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.
- Dorfman RI., Shipley RA., Androgens. John Wiley and Sons, New York, 116-128, 1956
- 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.
- 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.

2016-07-05



ANDROSTENEDIONA ELISA

No. de Producto AD183E (96 Pruebas)

USO INDICADO

El kit ELISA de Androstenediona está diseñado para la medición de androstenediona en suero o plasma.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La androstenediona es el principal precursor de la testosterona en las mujeres. Se sintetiza en la glándula suprarrenal. La medición de androstenediona se puede utilizar como un indicador de la actividad androgénica en las mujeres. La hormona esteroide Androstenediona es uno de los principales andrógenos, además de testosterona y dehidroepiandrosterona. En el sexo masculino, los andrógenos son secretados principalmente por las células de Leydig de los testículos, hasta cierto punto también en la corteza suprarrenal. En el sexo femenino, los andrógenos se secretan principalmente en las glándulas suprarrenales y en el ovario. Alrededor del 10% de los andrógenos se derivan de la conversión periférica, principalmente de la DHEA. La androstenediona y la testosterona muestran alta variabilidad diurna. Los niveles más altos se miden por la mañana. A la edad de la pubertad los niveles de androstenediona aumentan, después de la menopausia vuelven a disminuir. Los niveles altos de androstenediona se miden durante el embarazo. En las mujeres, altos niveles de androstenediona (47-100% por encima de lo normal) se encuentran generalmente en el hirsutismo, principalmente en combinación con otros andrógenos como la testosterona y DHEA-S. La sobreproducción de androstenediona se debe a disfunción ovárica o tal vez de origen suprarrenal. Altos niveles de androstenediona circulante son observados en mujeres con ovarios poliquisticos y bajo el efecto de 21-hidroxilasa. Niveles significativos más bajos de androstenediona se encuentran en la osteoporosis posmenopáusica.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El kit de Androstenediona ELISA se basa en el principio de unión competitiva entre Androstenediona la muestra del ensayo y el conjugado Androstenediona-HRP para una cantidad constante de conejo anti-Androstenediona. En la primera incubación, los pocillos recubiertos con IgG anti-conejo de cabra se incuban con 25 μ l de estándar de androstenediona, las muestras del paciente, reactivo conjugado de Androstenediona-HRP de 50 μ l y reactivo anti-Androstenediona de conejo a temperatura ambiente durante 60 minutos. Durante la incubación, la androstenediona etiquetada con HRP compete con la androstenediona endógena en el estándar y la muestra, para un número fijo de uniones del anticuerpo específico de androstenediona. Por lo tanto, la cantidad de Androstenediona peroxidasa conjugada inmunológicamente ligada al pozo disminuye progresivamente a medida que aumenta la concentración de Androstenediona en la muestra. Luego se retira el conjugado Androstenediona peroxidasa sin uniones y se lavan los pozos. A continuación, se añade una solución de reactivo TMB y se incuba a temperatura ambiente durante 15 minutos, lo que resulta en el desarrollo de color azul. El desarrollo del color se detiene con la adición de la solución stop, y la absorbancia se mide espectrofotométricamente a 450 nm. Se prepara una curva estándar que relaciona la intensidad del color con la concentración de Androstenediona.

| MATERIALES PROPORCIONADOS | 96 Pruebas |
|--|------------|
| 1. Micropocillos recubiertos con cabra anti-conejo IgG | 12x8x1 |
| 2. Estándar : 6 viales (listos para usar) | 0.5 ml |
| 3. Conjugado enzimático (listo para usar) | 7 ml |
| 4. Reactivo anti-androstenediona de conejo (listo para usar) | 7 ml |
| 5. Sustrato TMB (listo para usar) | 12 ml |
| 6. Solución de stop (lista para usar) | 12 ml |
| 7. Solución de lavado 20x Concentrada | 25ml |

MATERIAL NO SUMINISTRADO

- Agua destilada o desionizada
- Pipetas de precisión
- Puntas de pipeta desechables
- Lector ELISA capaz de leer la absorbancia a 450 nm
- Papel de absorción o toalla de papel
- Papel gráfico

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Conservar el kit a 2-8°C.
2. Mantenga los micropocillos sellados en una bolsa seca con desecantes.
3. Los reactivos son estables hasta la expiración del kit.
4. No exponga el reactivo al calor, al sol o a la luz fuerte.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Posibles materiales biológicos peligrosos:
El estándar contiene componentes de origen humano, que han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de la hepatitis B, así como anticuerpos contra el VIH con reactivos autorizados por la FDA. Sin embargo, no existe un método de prueba que pueda ofrecer una garantía completa de que el VIH, el virus de la hepatitis B u otros agentes infecciosos están ausentes. Estos reactivos deben tratarse en el nivel 2 de Bioseguridad, como se recomienda en el manual de los Centros para el Control y la Salud de enfermedades, "Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos" 1984.
2. Este kit de prueba está diseñado para uso de investigación solamente.
3. No pipetee por vía oral. No fume, coma ni beba en las áreas en las que se manipulan muestras o reactivos del kit.
4. Los componentes de este kit están diseñados para su uso como unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no deben mezclarse.
5. Se recomienda que las normas, el control y las muestras de suero se ejecuten por duplicado.
6. Los resultados óptimos se obtendrán mediante una estricta adhesión a este protocolo. Pipeteos exactos y precisos, así como seguir los requisitos exactos de tiempo y temperatura prescritos son esenciales. Cualquier desviación de esto puede producir datos no válidos.

MANEJO Y RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

1. Recoger muestras de sangre y separar el suero inmediatamente.
2. Las muestras pueden almacenarse refrigeradas a (2-8°C) durante 1 semana. Si el tiempo de almacenamiento supera la semana, almacene congelado a (-20°C) hasta un máximo de un mes.
3. Evitar varios ciclos de congelación y descongelación.
4. Antes del ensayo, los sueros congelados deben descongelarse y mezclarse bien.
5. No utilizar muestras altamente lipémicas.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

20X Búfer de lavado: Preparar 1X buffer de lavado añadiendo el contenido de la botella (25ml, 20X) a 475 ml de agua destilada o desionizada. Conservar a temperatura ambiente (18-26°C).

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Se debe permitir que todos los reactivos y muestras lleguen a temperatura ambiente antes de su uso. Todos los reactivos deben mezclarse sin espumar. Una vez iniciada la prueba, todos los pasos deben completarse sin interrupción.

1. Asegurar el número deseado de tiras de micropocillos en el soporte.
2. Dispensar estándares, controles y muestras de Androstenediona de 25µl en los pozos apropiados.
3. Dispensar conjugado de enzimas de 50µl en cada pozo.
4. Dispensar reactivo anti-androstenediona de 50µl en cada pozo.
5. Incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente con agitación.
6. Agitar rápidamente el contenido de los pozos. Enjuague los pozos 3 veces con la solución de lavado diluida. Golpear los pozos bruscamente en papel absorbente para eliminar las gotas de agua residuales.

NOTA: La sensibilidad y precisión de este ensayo está marcadamente influenciada por el correcto funcionamiento del procedimiento de lavado.

7. Añadir 100µl de Solución de Sustrato a cada pozo.
8. Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
9. Detener la reacción enzimática añadiendo 50µl de la solución de stop en cada pozo.
10. Leer la absorbancia en el lector ELISA a 450 nm dentro de los 15 minutos después de agregar la solución de stop.

CÁLCULO DE RESULTADOS

1. Calcular los valores medios de absorbancia para cada conjunto de estándares, controles y muestras de pacientes.
2. Construir una curva estándar trazando la absorbancia media obtenida de cada estándar contra su concentración en ng/ml con valor de absorbancia en el eje vertical (Y) y concentración en el eje horizontal (X)
3. Utilizando el valor medio de absorbancia para cada muestra, determinar la concentración correspondiente de androstenediona a partir de la curva estándar. Dependiendo de la experiencia y/o la disponibilidad de la capacidad informática, pueden emplearse otros métodos de reducción de datos.
4. Método automatizado: Los programas informáticos que utilizan spline cúbica, 4 PL (4 Parameter Logistics) o Logit-Log

generalmente pueden dar un buen ajuste.

5. La concentración de las muestras se puede leer directamente desde esta curva estándar. Las muestras con concentración de Androstenediona superior a la concentración del estándar más alto deben diluirse con el estándar cero. Para el cálculo de las concentraciones debe tenerse en cuenta este factor de dilución.

Ejemplo de una curva estándar

| | OD 450 nm | Conc. ng/mL |
|--------|-----------|-------------|
| Est. 1 | 2.132 | 0 |
| Est. 2 | 1.705 | 0.12 |
| Est. 3 | 1.324 | 0.37 |
| Est. 4 | 0.811 | 1.11 |
| Est. 5 | 0.314 | 3.33 |
| Est. 6 | 0.171 | 10 |

VALORES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos normales basados en un muestreo representativo de la población local. Los siguientes valores solo se pueden utilizar como rangos de directriz iniciales:

| | Edad | Rango de conc. ng/ml |
|--|--------|----------------------|
| Sexo masculino y sexo femenino premenopáusicas | Adulto | 0.25 – 3.0 |
| Sexo femenino posmenopáusicas | Adulto | 0.12 – 1.5 |

LIMITACION DE LA PRUEBA

1. No utilice azida de sodio como conservante. La azida de sodio inhibe las actividades enzimáticas de HRP.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

1. **Sensibilidad**
La sensibilidad se determinó calculando la media más 2DE del punto cero estándar probado 20 veces en la misma ejecución.

| Suero | No. de réplicas | Media ng/ml | Desviación estándar | Media + 2DE (Sensibilidad) ng/ml |
|---------------|-----------------|-------------|---------------------|----------------------------------|
| Estándar Cero | 24 | 0.008 | 0.008 | 0.024 |