

Inmunoensayo enzimático para la cuantificación de la Hormona Antimulleriana en suero.

USO PREVISTO

BIO-AMH ELISA está destinado a la medición cuantitativa de AMH en suero o plasma humano.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

BIO-AMH se basa en el método ELISA sándwich en fase sólida. Las muestras y el reactivo conjugado (biotina anti-AMH y HRP) se agregan a los pocillos recubiertos con estreptavidina. La AMH en el suero del paciente se une al Abs emparejado del par, formando un complejo sándwich y simultáneamente el complejo se inmoviliza en la placa a través de interacciones estreptavidina-biotina. La proteína no unida y el conjugado de HRP se lavan mediante un paso de lavado. Tras la adición del sustrato, la intensidad del color es proporcional a la concentración de AMH en las muestras. Se prepara una curva estándar relacionando la intensidad del color con la concentración de AMH.

| MATERIALES PROVISTOS | 96 Pruebas |
|---|------------|
| 1. Micropocillos recubiertos con estreptavidina | 12x8x1 |
| 2. Estándares AMH: 6 viales (liofilizados) | 0.5 ml |
| 3. Controles AMH: 2 niveles (liofilizado) | 0.5 ml |
| 4. Reactivo Conjugado AMH: 1 frasco (listo para usar) | 12 ml |
| 5. Substrato TMB: 1 botella (lista para usar) | 12 ml |
| 6. Solución de parada: 1 botella (lista para usar) | 12 ml |
| 7. Concentrado de lavado 20X: 1 botella | 25 ml |

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Agua destilada o desionizada.
2. Pipetas de precisión.
3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector Microelisas con lente a 450 nm de longitud de onda con una banda de amplitud de 10nm o menor y un rango de densidad óptica de 0-2 OD o mayor.
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadrículado.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Almacene el equipo a 2°- 8°C. Mantenga las tiras de pocillos selladas en la bolsa de aluminio. Todos los compuestos son estables hasta su fecha de expiración siempre y cuando las condiciones de almacenamiento sean estrictamente llevadas a cabo como aquí se indica.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

Recolecte sangre por venopunción. Separe el suero por centrifugación. **EVITE AGREGAR ANTI-COAGULANTES A LA MUESTRA.** En caso de no hacer el examen inmediatamente, refrigere la muestra 2°- 8°C o congele.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. Para el 1X Buffer de Lavado: Prepare el buffer agregando los componentes de la botella de 25 ml, 20X a 475 ml. de agua destilada o desionizada. Almacene a temperatura ambiente.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

1. Antes del ensayo, permita que los reactivos reposen a temperatura ambiente. Mezcle suavemente todos los reactivos antes de usar.
2. Coloque el número deseado de tiras recubiertas en el soporte
3. Pipetee 50 µl de estándares de AMH, control y suero del paciente en los pocillos apropiados.
4. Agregue 100 µl de reactivo conjugado de AMH a todos los pocillos.
5. Cubra la placa e incube durante 90 minutos a temperatura ambiente (20-25 ° C) en un agitador de placas (650 rpm).
6. Retire el líquido de todos los pozos. Lave todos los pocillos cinco veces con 300 µl de tampón de lavado 1X. Seque sobre toallas de papel absorbente.
7. Agregue 100 µl de sustrato TMB en todos los pocillos.
8. Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente en un agitador de placas (650 rpm).
9. Agregue 50 µl de solución de parada a todos los pocillos. Agite la placa suavemente para mezclar la solución.
10. Lea la absorbancia en ELISA Reader a 450 nm dentro de los 15 minutos después de agregar la solución de parada.

CÁLCULO DE RESULTADOS

La curva estándar se construye de la siguiente manera:

1. Verifique el valor estándar de AMH en cada vial estándar. Este valor puede variar de un lote a otro. Asegúrese de verificar el valor en cada kit.
2. Para construir la curva estándar, trace la absorbancia de los estándares AMH (eje vertical) versus las concentraciones estándar AMH en ng / ml (eje horizontal) en un papel cuadrículado lineal. Dibuja la mejor curva a través de los puntos.
3. Lea la absorbancia de los controles y cada muestra desconocida de la curva. Grabar el valor para cada control o muestra desconocida.
4. El valor por encima del punto más alto del estándar se debe volver a analizar después de diluir con el estándar.

Ejemplo de curva estándar

| | OD 450 NM | Conc. pg/ml |
|-------|-----------|-------------|
| Std 1 | 0.018 | 0 |
| Std 2 | 0.042 | 0.13 |
| Std 3 | 0.091 | 0.44 |
| Std 4 | 0.352 | 1.85 |
| Std 5 | 1.351 | 7.63 |
| Std 6 | 2.757 | 16 |

VALORES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos normales basados en un muestreo representativo de la población local.

| Valor esperado | Clasificación |
|----------------|---------------|
| < 0.2 | Esterilidad |
| 0.2 – 1 | En riesgo |
| > 1 | Fértil |

REFERENCIAS

1. Pepinski, R.B., et al. (1988) J. Biol. Chem., 263, 18961-18964
2. Di Clemente et al. Mol Endocrinol, November 2010, 24 (11): 2193-2206.
3. HHS Publication, 5th ed., 2007. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Available <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmb15/BMBL5>
4. DHHS (NIOSH) Publication No. 78-127, August 1976. Current Intelligence Bulletin 13 – Explosive Azide Hazard. Available <http://www.cdc.gov/niosh>
5. Approved Guideline – Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18-A3. 2004. Clinical and Laboratory Standards Institute.
6. Kricka L. Interferences in immunoassays – still a threat. Clin Chem 2000; 46: 1037-1038.

Distribuido por:
Grupo Industrial MexLab S.A. de C.V.
01800-111-4343
www.grupomexlab.com