

INTENCIÓN DE USO

El kit Progesterona ELISA se utiliza para la determinación cuantitativa de concentraciones de la Hormona Progesterona en suero o plasma humano.

RESUMEN

La progesterona es un esteroide C21, que es sintetizada a partir de los tejidos y colesterol circulante. El colesterol es transformado en pregnenolona por medio de la deshidrogenasa e isomerasa en progesterona. Los sitios principales de producción son las glándulas suprarrenales, los ovarios y la placenta durante el embarazo. La mayoría de los esteroides son metabolizados en el hígado para pregnaneidol y conjugado como un glucoronido antes de la excreción por los riñones. La progesterona exhibe una gran variedad sobre los órganos. El rol primario de la progesterona se presenta en los órganos reproductores. En los hombres, la progesterona es un intermediario necesario para la producción de corticosteroides y andrógenos. En mujeres la progesterona permanece a niveles relativamente constantes en la fase folicular del ciclo menstrual. La concentración incrementa rápidamente durante la ovulación y permanece elevada por 4 – 6 días y decrece a los niveles iniciales 24 horas antes del inicio de la menstruación. En el embarazo, la producción de progesterona por medio de la placenta incrementa los niveles de 10 a 20 veces de aquellos del pico de la fase lútea. La determinación de progesterona es efectuada para determinar la ovulación así como para caracterizar los defectos de la fase lútea. El monitoreo de la terapia con progesterona y las evaluaciones del embarazo temprano comprenden el resto de los ensayos de progesterona. El equipo de Progesterona por sistema Elisa está diseñado para la evaluación cuantitativa de la progesterona Total en suero o plasma humano.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

La Progesterona es una fase competitiva de ELISA. Las muestras y la enzima conjugada de Progesterona son agregadas a los pozos recubiertos con anticuerpos anti-Progesterona monoclonales. La progesterona presente en la muestra del paciente competirá con la Progesterona marcada enzimáticamente por la unión con el anticuerpo anti-Progesterona inmovilizado en la superficie del micropozo. La muestra y el conjugado no unidos se eliminan por lavado, se agregan los reactivos de desarrollo de color. Al reaccionar con la enzima unida se lleva a cabo un cambio de color el cual será inversamente proporcional a la concentración de la progesterona en la muestra del paciente. Una curva estándar es obtenida graficando la concentración de los estándares contra la absorbancia de la muestra.

MATERIALES PROVISTOS	96 Pruebas
1. Micropozos recubiertos con Progesterona MAc	12x8x1
2. Estándares de Progesterona : 6 viales (listos para su uso)	0.25 ml
3. Enzima Conjugada (20 X)	1.2 ml
4. Diluyente de la muestra	24 ml
5. Sustrato TMB: 1 frasco (listo para su uso)	12 ml
6. Solución de Frenado: 1 frasco (listo para su uso)	12 ml
7. Solución de Lavado Concentrado: 1 frasco (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 450nm 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 cuadriculado.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Almacene el kit a 2 - 8°C.
2. Mantenga las tiras de los pocillos selladas en la bolsa de aluminio.
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. Potencial de los materiales de riesgo biológico: Los calibradores contienen componentes de origen humano, que se han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de hepatitis B y anticuerpos contra el VIH Aprobado por la FDA. Sin embargo no hay método de prueba que puede ofrecer completa seguridad de que el virus VIH, Hepatitis B u otros agentes infecciosos estén presentes. Estos reactivos deben ser manejados según el Nivel de Bioseguridad 2, como se recomienda en los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de Salud manuales. "Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos" 1984
2. No pipetee con la boca. No fume, coma, o beba en el área donde maneje este equipo
3. Los componentes en este equipo son para uso como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no se deben mezclar
4. Es recomendable que los estándares, controles y muestras de suero se corran por duplicado
5. Para obtener óptimos resultados, debe apegarse estrictamente al protocolo. Pipeteado exacto y preciso, así como después de la hora exacta y requerimientos de temperatura prescritos son esenciales. Cualquier desviación de este pueden dar datos no válidos.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. Los resultados obtenidos mediante la utilización de este kit sirven solo como ayuda en el diagnóstico y deben ser interpretados en relación a la historia clínica del paciente, síntomas y otros procedimientos de diagnóstico.
2. No utilice ácido de sodio como preservante ya que inhibe la actividad de la enzima HRP.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

1. Se recomienda recoger muestras de suero con equipamientos disponibles en el mercado. Las muestras de suero debe ser totalmente incoloro incluso el color rojo muestra ligera contaminación de la sangre.
2. Las muestras pueden ser refrigeradas de (2-8°C) por 1 día. Muestras congeladas (-20°C) no más de un mes.
3. Evitar múltiples ciclos de congelación-descongelación.
4. Previo al ensayo, las muestras congeladas, deberán descongelarse totalmente y mezclarse.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. **Reactivo de trabajo A enzima conjugada:** Diluir la enzima conjugada 1:21 con diluyente de muestra en un recipiente adecuado. Por ejemplo, diluir 100µl del conjugado con 2 ml de diluyente de la muestra (este reactivo de trabajo es suficiente para 10 micropozos).
2. **Buffer de Lavado** Prepare una solución de lavado 1X, adicionando el contenido de la botella (25 ml.20 X) a 475 ml de agua destilada o desionizada. Conserve a temperatura ambiente.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Previo al ensayo, permita que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18°-26°C). Mezcle suavemente los reactivos antes de su uso.

1. Corte el número de pozos a utilizar. Cierre y selle el resto de los micropocillos no utilizados y refrigérelos a 2-8° C.
2. Agregue 10 µl de estándares, especímenes y controles en los pozos apropiados.
3. Agregue 200 µl de enzima conjugada de trabajo en cada micro pocillo.
4. Incube a temperatura ambiente por 60 minutos (18-26°C).
5. Retire el líquido de los pocillos. Enjuague y lave los pocillos tres veces con 300 µl de solución de lavado de 1X. Golpee la placa de los micropocillos sobre papel absorbente para remover las gotas de agua residuales.
6. Vierta 100 µl de sustrato TMB a todos los pocillos.
7. Incube a temperatura ambiente por 15 minutos.
8. Frene la reacción agregando 50 µl de solución de frenado a cada pocillo. Sacuda

gentilmente para facilitar el mezclado de la solución.

- Lea la densidad óptica a 450nm con un lector de placa de micro valoración en un plazo de 15 minutos después de haber agregado la solución de frenado.

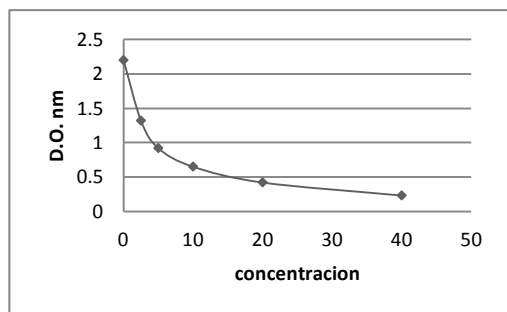
CÁLCULO DE RESULTADOS

La curva estándar se construye de la siguiente manera:

- Compruebe el valor estándar de la media de la absorbancia (a450) para cada grupo de Estándares de referencia, controles y muestras. Este valor puede variar de lote a lote. Asegúrese de verificar el valor de cada kit. Véase el ejemplo de la norma adjunta.
- Para construir la curva estándar, trazar la absorbancia para el estándar de Progesterona (eje vertical) frente a las concentraciones estándar de Progesterona (eje horizontal) en un papel gráfico lineal. Dibuje la mejor curva a través de los puntos.
- Leer la absorbancia de los controles y cada muestra desconocida de la curva. Registre el valor de cada control o muestra desconocida.

Ejemplo de Curva Standard

Standard	OD (450 nm)
0 mIU/ml	2.20
2.5 mIU/ml	1.32
5 mIU/ml	0.92
10 mIU/ml	0.65
20 mIU/ml	0.42
40 mIU/ml	0.23



VALORES ESPERADOS Y SENSIBILIDAD

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos normales sobre la base de una muestra representativa de la población local. Los siguientes valores de Progesterona pueden ser utilizados solo como guía:

		ng/mL	
Hombres			
	18-29 años	≤0.3	
	30-59 años	≤0.2	
Mujeres			
	Fase folicular	≤2.7	
	Fase lútea	3.0-31.4	
	Postmenopausicas	≤0.2	
	1 ^{er} trimestre	10.25-44.0	
	2 ^o trimestre	19.5-82.5	
	3 ^{er} trimestre	65.0-229.0	
Niños			
		Hombres	Mujeres
	5-9 años	≤0.7	≤0.6
	10-13 años	≤1.2	≤10.2
	14-17 años	≤0.8	≤11.9

PERFORMANCE.

Precisión:

Intra Ensayo

Suero	No. de Réplicas	Media mIU/ml	Desvío Estandar	Coefficiente de Variación (%)
1	10	1.72	0.092	5.36
2	10	10.1	0.16	1.62
3	10	19.7	0.4	2.04

Inter Ensayo

Suero	No. de Réplicas	Media mIU/ml	Desvío Estandar	Coefficiente de Variación (%)
1	10	2.16	0.21	9.68
2	10	9.73	0.85	8.8
3	10	19.1	1.2	6.3

3. Sensibilidad:

La sensibilidad de esta prueba fue al calcular la media más dos desvíos estándar del punto de estándar cero, veinte veces en la misma prueba.

Suero	No. de Réplicas	Media mIU/ml	Desvio Estandar	Media + 2SD (Sensibilidad)
Zero Standard	20	0.04	0.09	0.22 ng/ml

4. Especificidad:

Los siguientes materiales han sido controlados para reactividad cruzada. El porcentaje indica una reactividad cursada del 50% comparada a la Progesterona. Dicha información relacionada para varios esteroides endógenos y farmacéuticos ha sido resumida en la siguiente tabla:

REFERENCIAS

- Radwanska, E., Frankenberg, J., and Allen, E., Plasma progesterone levels in normal and abnormal early human pregnancy. *Fertility and Sterility*, 1978; 30, 398-402.
- Autrere, M.B., and Benson, H., Progesterone: An overview and recent advances. *J. Par. Sci.*, 1976; 65: 783-800.
- March, C.M., Goebelsmann, U., Nakamura, R.M., and Mishell, D.R. Jr., Roles of estradiol and progesterone in eliciting the midcycle luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone surges. *J. Clin. Endo. Metab.*, 1979; 49, 507-513.
- Ross, G.T., Vande Wiele, R.L., and Frantz, A.G., The Ovaries and the breasts. In: Williams, R.H., ed., *Textbook of Endocrinology*. Saunders Company, Philadelphia; 1981: 355-411.
- Chattoraj, S.C., Endocrine function. In: Tietz, N.W., ed., *Fundamentals of Clinical Chemistry*. Saunders Company, Philadelphia; 1976: 699-823.
- Shepard, M.K., and Senturia, Y.D., Comparison of serum progesterone and endometrial biopsy for confirmation of ovulation and evaluation of luteal function. *Fertility and Sterility*, 1977; 28: 541-548.
- Johansson, E.D.B., and Jonasson, L.-E., Progesterone levels in amniotic fluid and plasma from women: I. Levels during normal pregnancy. *Acta Obstet. Gynec. Scand.*, 1971; 50: 339-343.
- USA Center for Disease Control/National Institute of Health Manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" 1984.
- Tietz, N.W. ed., *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd Edition, W.B. Saunders, Co., Philadelphia, 1995: 509-512.

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