

PROGESTERONA [I-125] RIA KIT

Código: RK-460CT

Estuche para 100 determinaciones

Juego de reactivos para la determinación cuantitativa *in vitro* de Progesterona en suero humano, en el rango de 0-120 nmol/L (0-37,7 ng/mL).

Introducción

La Progesterona (4-pregнено-3,20-diona) es una hormona esteroidea (Mw=314.5) secretada por el cuerpo lúteo en las mujeres durante el ciclo menstrual y en una cantidad mucho mayor por la placenta durante el embarazo. Además la produce en menores cantidades la corteza suprarrenal, tanto en hombres como en mujeres. La mayor parte de la Progesterona circulante se encuentra enlazada a la albúmina y a la globulina enlazadora de corticosteroides (CBG), la hormona libre bioactiva representa solamente un 2.5-3 % de la hormona total.

Las funciones fisiológicas fundamentales de la Progesterona incluyen la preparación del endometrio para la implantación del ovocito fecundado y su mantenimiento durante el embarazo. Además interviene en la regulación hormonal, el mantenimiento del epitelio vaginal, la relajación de la musculatura lisa uterina durante la embriogénesis y la maduración de la glándula mamaria durante la lactancia.

La determinación de la Progesterona en suero se utiliza para el diagnóstico de la infertilidad y de trastornos en el ciclo menstrual. También se ha recomendado la medición de la Progesterona en las primeras 10 semanas del embarazo para el diagnóstico y tratamiento de pacientes con amenaza de aborto y embarazo ectópico.

Principio del ensayo

Este ensayo está basado en una reacción competitiva entre la Progesterona no marcada, presente en las muestras y calibradores, con una cantidad fija de Progesterona marcada con ¹²⁵I por un número limitado de sitios de unión al anticuerpo anti-Progesterona. La cantidad de Progesterona marcada con ¹²⁵I que se une al anticuerpo es inversamente proporcional a la concentración de Progesterona no marcada presente en las muestras.

El inmuno-complejo se inmoviliza en la superficie reactiva de los tubos de ensayo durante un período de incubación de 1 hora bajo agitación constante. Después de la incubación se decantan los tubos y se mide la radiactividad enlazada en un contador gamma.

La concentración del antígeno es inversamente proporcional a la radiactividad medida en los tubos. Utilizando los calibradores de concentración conocida de Progesterona, se prepara una curva estándar a partir de la cual se determina por interpolación la concentración de Progesterona presente en las muestras.

Contenido del juego

1. TRAZADOR, 1 frasco con 11 mL, listo para usar, contiene < 260 kBq de Progesterona marcada con ¹²⁵I en solución tampón con 0,1 % NaN₃.

2. ANTISUERO, 1 frasco con 11 mL listo para usar, contiene anticuerpo monoclonal (oveja)

anti-Progesterona biotinilado en solución tampón con 0,1 % NaN₃.

3. CALIBRADORES (S1-S6), 6 frascos listos para usar con S1: 1 mL y S2 - S6: 0,5 mL de suero humano y 0,1% NaN₃. Los calibradores contienen: 0 - 0,8 - 3,6 - 11 - 33 - 120 nmol/L de Progesterona (calibración: ERM-DA347).

4. SUERO CONTROL, 1 frasco, listo para usar, contiene 0,5 mL de suero humano con 0,1% NaN₃. La concentración del suero control está especificada en el certificado de calidad incluido.

5. TUBOS RECUBIERTOS: 2x50 tubos de 12x75 mm, empaquetados en cajas plásticas, listos para usar.

6. SOLUCIÓN DE LAVADO, 1 frasco, contiene 20 mL de solución concentrada. Diluir con 700 mL de agua destilada. Contiene 0,2 % NaN₃.

Materiales y equipos necesarios

Gradilla para tubos de ensayo, pipeta de precisión con puntas desechables (20 µL), agitador horizontal u orbital, lámina de polietileno, papel absorbente, contador gamma.

Materiales y equipos recomendados:

Pipeta de repetición (100 µL). Jeringa automática (dispensador) o pipeta de repetición (2 mL) para el lavado.

Recolección y almacenamiento de las muestras

Las muestras de suero deben colectarse de acuerdo a los procedimientos habituales que se practican en los laboratorios clínicos. Las muestras pueden conservarse entre 2 y 8 °C si el análisis se efectuará dentro de las 24 horas siguientes a su recolección, de lo contrario deben conservarse congeladas a una temperatura igual o menor que -20 °C hasta 20 semanas. Las muestras congeladas deben descongelarse y mezclarse completamente antes de su uso.

Las muestras de concentración mayor que 120 nmol/L deben diluirse con el calibrador 0 (S1) y reanalizarse. Evitar la congelación y descongelación repetida de las muestras.

Preparación y conservación de los reactivos

La solución concentrada de lavado debe diluirse con 700 mL de agua destilada. Así diluida esta solución se conserva entre 2 y 8 °C hasta la fecha de vencimiento del juego.

Los otros reactivos proporcionados están listos para el uso. Conservar los reactivos entre 2 y 8 °C después de abiertos. A esta temperatura cada componente es estable hasta la fecha de vencimiento del juego. La fecha de caducidad exacta se especifica en la etiqueta del estuche y en el certificado de calidad.

PRECAUCIÓN!

Permitir que todos los reactivos y muestras alcancen la temperatura ambiente (mín. 1 hora). Homogenizar completamente todos los reactivos y muestras antes de su uso, evitando la formación de espuma.

Procedimiento para el ensayo

(Ver Tabla 1.)

1. Rotular los tubos recubiertos por duplicado para cada calibrador (S1-S6), suero control (C) y muestras (M). Opcionalmente, marcar dos tubos no recubiertos para los totales (T).
2. Añadir por duplicado 20 µL de calibrador, suero control y muestras en los tubos apropiados.
3. Añadir 100 µL de trazador en cada tubo.
4. Añadir 100 µL de antisuero en cada tubo, excepto T. Este paso no debe durar más de 5 minutos, utilizar preferiblemente una pipeta de repetición.
5. Fijar la gradilla con los tubos de ensayo firmemente en el agitador. Cubrir los tubos con una lámina de polietileno. Encender el agitador y ajustar la velocidad de manera tal que el líquido en los tubos esté rotando o agitándose constantemente.
6. Incubar los tubos en el agitador durante 1 hora a temperatura ambiente.
7. Añadir 2 mL de solución de lavado a cada tubo. Aspirar o decantar el líquido de todos los tubos (excepto T) mediante la inversión de la gradilla. Colocar la gradilla sobre un papel absorbente por 5 minutos manteniendo la posición invertida.
8. Medir la radiactividad de cada tubo por 60 segundos en un contador gamma y calcular la concentración de Progesterona en las muestras como se describe a continuación.

Tabla 1. Protocolo del ensayo (volúmenes en microlitros)

	T	S1-S6	C	Mx
Calibrador		20		
Control			20	
Muestras				20
Trazador	100	100	100	100
Antisuero		100	100	100
Agitar 1 hora a temperatura ambiente				
Solución de lavado		2000	2000	2000
Decantar y secar en papel absorbente				
Medir la radiactividad (60 s/tubo)				
Calcular los resultados				

Cálculo de los resultados

En la Tabla 2 y la figura 1 se muestran a manera de ejemplo los cálculos y una curva estándar típica de un ensayo.

Para los cálculos:

Hallar la media de los conteos por minuto (cpm) para cada par de tubos.

Calcular el porcentaje B₀/T% para el calibrador de concentración cero (S1) según la ecuación siguiente:

$$B_0/T\% = \frac{S1 \text{ (cpm)}}{T \text{ (cpm)}} \times 100$$

B₀/T% es un parámetro opcional del control de calidad, no necesario para la determinación de la concentración de las muestras.

Calcular el porcentaje de unión para cada calibrador, control y muestra, utilizando la siguiente ecuación:

$$B/B_0(\%) = \frac{S2-6 / C / Mx \text{ (cpm)}}{S1 \text{ (cpm)}} \times 100$$

Plotear los porcentos B/B₀ (%) contra la concentración de Progesterona de cada calibrador en un papel semi-logarítmico. Determinar la concentración de Progesterona en las muestras por interpolación de la curva estándar. No extrapolar valores fuera del rango de la curva.

Para el procesamiento automatizado de los datos pueden utilizarse programas de ajuste tipo spline o logit-log.

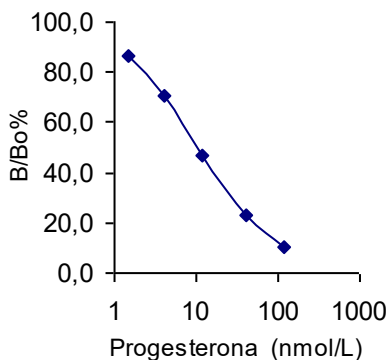
Tabla 2. Datos típicos del ensayo

Tubes	Mean CPM	B/T %	B/B ₀ %
T	68202		
S1	53434	78,3	100
S2	45958	67,4	86,0
S3	35030	51,4	65,6
S4	21448	31,4	40,1
S5	10604	15,5	19,8
S6	4051	5,9	7,6
C	11390	16,7	21,3

Figura 1.

Ejemplo de curva estándar

(No utilizar para calcular valores de las muestras!)



Características del ensayo

Parámetros típicos

B₀/T 72 - 85%
ED-50 5,9 - 9,2 nmol/L

Sensibilidad

La sensibilidad analítica es de 0,11 nmol/L, calculada como la concentración correspondiente al valor de enlace medio más dos desviaciones estándar para 20 réplicas del calibrador de concentración cero.

Especificidad

Se adicionaron diferentes esteroides al calibrador de concentración cero y se determinó la concentración aparente de Progesterona. Con los siguientes esteroides adicionados a 700 nM se obtuvo un resultado no detectable (< 0,11 nmol/L): 17β-estradiol, 5α dihidrotestosterona, 5β dihidro-19-nortestosterona, androstendiol, aldosterona, estrona. La reactividad cruzada con DHEA-S se evaluó a 30 μmol/L, la concentración aparente de Progesterona medida fue 0,28 nmol/L.

Concentración añadida	70 nM	700 nM
<i>Progesterona aparente medida (nM)</i>		
17α metil-testosterona	0,25	0,22
Cortisol	0,18	0,25
19-nortestosterona	0,25	0,28

Cortisona	0,21	0,28
Androstandiol	0,21	0,3
Androstendion	0,12	0,34
Deoxicortisol	0,12	0,39
Testosterona	0,1	0,42
17 α OH Progesterona	0,3	0,81
Sulfato de Pregnenolona	0,35	3,57
Pregnenolona	0,5	4,99
Corticosterona	1,07	12,01
Deoxicorticosterona	1,66	14,21

Precisión

La precisión intra-ensayo se determinó a partir de 20 réplicas de 6 muestras, medidas en una serie. Para determinar la precisión inter-ensayo se midieron por duplicado 6 muestras, en 20 series independientes. Los valores obtenidos se muestran a continuación.

Intra-assay		Inter-assay	
Media (nM)	CV%	Media (nM)	CV%
1,87	6,7	1,78	17,3
5,61	3,6	5,33	6,1
17,65	2,4	18,4	3,4
26,35	2,4	27,67	3,1
64,6	2,8	66,6	8,2
80,48	2,2	76,5	5,1

Prueba de Recuperación

La recuperación se determinó como la diferencia porcentual entre el incremento observado y el incremento esperado, luego de añadir tres concentraciones conocidas de Progesterona a cinco muestras de concentraciones endógenas diferentes.

La recuperación obtenida fue 90,4% ± 4,7% (media ± SD).

Prueba de dilución (linealidad)

Se diluyeron 5 muestras (1:2 y 1:4) con el estándar de concentración cero y se sometieron a ensayo. Se obtuvo la siguiente relación lineal entre los valores medidos (Y) y los valores esperados (X):

$$y = 1,0009x - 0,1259 \quad R^2 = 0,9987 \quad n = 10$$

Valores de referencia

Los valores presentados a continuación deben considerarse como informativos. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

Mujeres	N	Mínimo (nmol/L)	Máximo (nmol/L)
Fase folicular	31	0,33	5,98
Pico ovulatorio	21	0,24	4,76
Fase lutea	22	12,9	70,0
Menopausa	49	0,12	2,27
<hr/>			
Hombres	43	0,62	3,75
<hr/>			
Niños (3-10 y)	64	0,37	3,59

Conversión de las unidades de medida

1 nmol/L = 0,3145 ng/mL
1 ng/mL = 3,18 nmol/L

Limitaciones del procedimiento

• Los reactivos provistos en este juego están optimizados para la medición de Progesterona en suero.

- Las muestras hemolizadas, turbias o lipémicas pueden dar resultados falsos, evite su uso.
- Los resultados solo deben ser interpretados dentro del contexto clínico apropiado y nunca como prueba única e infalible de anomalía o enfermedad.

Atención! No mezclar los componentes de lotes diferentes o con productos de otro fabricante!

Precauciones

Material radiactivo

Este producto contiene material radiactivo. Es responsabilidad de cada laboratorio cumplir con las regulaciones locales referentes a la manipulación, conservación y desecho de materiales radiactivos.

Material potencialmente infeccioso

El suero humano utilizado en este producto ha sido analizado con métodos aprobados y no ha presentado positividad para anticuerpos frente a los virus de Inmunodeficiencia Humana (Anti-HIV-1/2) y Hepatitis-C (HCV), anticuerpos anti-Treponema y el antígeno de superficie de la Hepatitis-B (HBsAg). Ninguno de los métodos analíticos disponibles actualmente puede garantizar por completo la eliminación de posibles riesgos biológicos. Se deben manipular todos los reactivos y muestras de sangre como material potencialmente infeccioso.

Peligro químico

Algunos componentes de este juego contienen azida sódica como preservante. Al verter los desechos no radiactivos al sistema de desagüe se debe diluir con grandes cantidades de agua, para evitar la acumulación de azidas metálicas explosivas en las tuberías de plomo y cobre. Este producto contiene en total 66 mg de azida sódica.



Fecha de vencimiento

LOT

Número de lote



Almacenar entre 2 y 8 °C

CONTROL

Suero Control



Precaución

CAL

Calibrador



Peligro biológico

CT

Tubos recubiertos



Consulte las instrucciones

TRAC

Trazador



Dispositivo para diagnóstico in vitro

AS

Antisuero



Fabricante



Material radiactivo

REF

Número de referencia

WASHB

Solución de lavado



Sitio WEB: <http://www.izotop.hu>

E-mail técnico: immuno@izotop.hu

E-mail comercial: commerce@izotop.hu

IZOTOP

INSTITUTE OF ISOTOPES Ltd.

1535 Budapest. Pf.: 851.

Tel.: (+36) 1-392-2577, Fax: (+36) 1-395-9247

Edición: Marzo/2021.