



DHEA-S-ELISA

KAPD1562

LOT : 110225/1



DHEA-S ELISA

en

KAPD1562

IN VITRO DIAGNOSTIC USE

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax : +32 10 84 99 90

1 INTRODUCTION

The **DIAsource DHEA-S Enzyme Immunoassay Kit** provides materials for the quantitative determination of DHEA-S in serum and plasma. **This assay is intended for in vitro diagnostic use only.**

Dehydroepiandrosterone (5-Androstene-3 β -0L-17-one, Androstenolone, Dehydroisoandrosterone, Transdehydroandrosterone, DHEA) is a steroid hormone present in blood mostly in its sulfate form (DHEA-S).

DHEA-S is a more specific product of the adrenals and measurements of this steroid are widely used in clinical practice. The clinical importance of plasma assays of DHEA-S is associated with the diagnosis of adrenal hyperplasia and differential diagnosis of hirsutism (1).

2 PRINCIPLE OF THE TEST

The DIAsource DHEA-S ELISA Kit is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), based on the principle of competitive binding. The microtiter wells are coated with a polyclonal antibody directed towards a unique antigenic site of the DHEA-S molecule.

Endogenous DHEA-S of a patient sample competes with a DHEA-S horseradish peroxidase conjugate for binding to the coated antibody. After incubation the unbound conjugate is washed off.



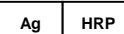
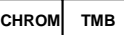
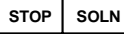

The amount of bound peroxidase conjugate is reverse proportional to the concentration of DHEA-S in the sample. After addition of the substrate solution, the intensity of colour developed is reverse proportional to the concentration of DHEA-S in the patient sample.

3 PRECAUTIONS

- This kit is for in vitro diagnostic use only.
- For information on hazardous substances included in the kit please refer to Material Safety Data Sheets.
- All reagents of this test kit which contain human serum or plasma have been tested and confirmed negative for HIV I/II, HBsAg and HCV by FDA approved procedures. All reagents, however, should be treated as potential biohazards in use and for disposal.
- Avoid contact with Stop Solution containing 0.5 M H₂SO₄. It may cause skin irritation and burns.
- Never pipet by mouth and avoid contact of reagents and specimens with skin and mucous membranes.
- Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.
- Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents or specimens may give false results.
- Handling should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guideline or regulation.
- Do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
- All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microtiterplate readers.
- Do not mix or use components from kits with different lot numbers. It is advised not to exchange wells of different plates even of the same lot. The kits may have been shipped or stored under different conditions and the binding characteristics of the plates may result slightly different.
- Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according the national biohazard safety guideline or regulation.

4 KIT COMPONENTS

4.1 Contents of the Kit

1.  12x8 (break apart) strips, 96 wells
Wells coated with anti-DHEA-S antibody
2.  CAL N
N=0 to 6
7 vials, 1 ml, ready to use
See exact value on the vial label
Conversion : 1 μ g/ml = 2.6 μ mol/l
Contains 0.03% Proclin 300 + 0.005% gentamicin sulfate as preservative
3.  Ag HRP
Enzyme Conjugate, 1 vial, 25 ml, ready to use
DHEA-S conjugated to horseradish peroxidase
*Contains 0.03% Proclin 300, 0.015% BND and 0.010% MIT as preservative
4.  CHROM TMB
Substrate Solution, 1 vial, 14 ml, ready to use
TMB
5.  STOP SOLN
Stop Solution, 1 vial, 14 ml, ready to use
contains 0.5M H₂SO₄
Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.
6.  WASH SOLN CONC
Wash Solution, 1 vial, 30 ml (40X concentrated)
see „Preparation of Reagents“

- * BND = 5-bromo-5-nitro-1,3-dioxane
MIT = 2-methyl-2H-isothiazol-3-one

Note: Additional Zero Calibrator for Sample dilution available on request.

4.1.1 Equipment and material required but not provided

1. A microtiterplate calibrated reader (450±10 nm)
2. Calibrated variable precision micropipettes.
3. Absorbent paper.
4. Distilled water.

4.2 Storage and stability of the Kit

When stored at 2-8°C unopened reagents will retain reactivity until expiration date. Do not use reagents beyond this date. All opened reagents must be stored at 2-8°C. Microtiter wells must be stored at 2-8°C. Once the foil bag has been opened, care should be taken to close it tightly again.

4.3 Preparation of Reagents

Allow all reagents and required number of strips to reach room temperature prior to use.

Wash Solution

Add deionized water to the 40X concentrated Wash Solution

Dilute 30 ml of concentrated Wash Solution with 1170 ml deionized water to a final volume of 1200 ml. The diluted Wash Solution is stable for 2 weeks at room temperature.

4.4 Disposal of the Kit

The disposal of the kit must be made according to the national official regulations. Special information for this product are given in the Material Safety Data Sheets.

5 SPECIMEN

Serum or plasma (EDTA-, Heparin- or citrat plasma) can be used in this assay. Do not use haemolytic, icteric or lipaemic specimens.

Please note: Samples containing sodium azide should not be used in the assay.

5.1 Specimen collection

Serum :

Collect blood by venipuncture (e.g Sarstedt Monovette # 02.1388.001), allow to clot, and separate serum by centrifugation at room temperature. Do not centrifuge before complete clotting has occurred. Patients receiving anticoagulant therapy may require increased clotting time.

Plasma :

Whole blood should be collected into centrifuge tubes containing anti coagulant and centrifuged immediately after collection.

(E.g for EDTA plasma Sarstedt Monovette – red cap - # 02.166.001; for Heparin plasma Sarstedt Monovette – orange cap - # 02.165.001; for Citrat plasma Sarstedt Monovette – green cap - # 02.167.001.)

5.2 Specimen storage

Specimens should be capped and may be stored for up to 5 days at 2-8°C prior to assaying.

Specimens held for a longer time should be frozen only once at -20°C prior to assay. Thawed samples should be inverted several times prior to testing.

5.3 Specimen dilution

If in an initial assay, a serum specimen is found to contain more than the highest calibrator, the specimens can be diluted with calibrator 0 and re-assayed as described in Assay Procedure.

For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

Example:

- a) dilution 1:10 : 10 µl Serum + 90 µl Calibrator 0 (mix thoroughly)
- b) dilution 1:100 : 10 µl dilution a) 1:10 + 90 µl Calibrator 0 (mix thoroughly).

6 TEST PROCEDURE

6.1 General Remarks

- All reagents and specimens must be allowed to come to room temperature before use. All reagents must be mixed without foaming.
- Once the test has been started, all steps should be completed without interruption.
- Use new disposal plastic pipet tips for each calibrator, control or sample in order to avoid cross contamination.
- Absorbance is a function of the incubation time and temperature. Before starting the assay, it is recommended that all reagents be ready, caps removed, all needed wells secured in holder, etc. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step without interruption.
- As a general rule the enzymatic reaction is linearly proportional to time and temperature.

6.2 Assay Procedure

Each run must include a calibration curve.

1. Secure the desired number of Microtiterwells in the holder.
2. Dispense **25 µl** of each Calibrator, controls and samples with new disposable tips into appropriate wells.
3. Dispense **200 µl** Enzyme Conjugate into each well.
4. Thoroughly mix for 10 seconds. It is important to have a complete mixing in this step.
5. Incubate for **60 minutes** at room temperature without covering the plate.
6. Briskly shake out the contents of the wells.
Rinse the wells 3 times with diluted Wash Solution (400 µl per well). Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.
Important note:
The sensitivity and precision of this assay is markedly influenced by the correct performance of the washing procedure!
7. Add **100 µl** of Substrate Solution to each well.
8. Incubate for **15 minutes** at room temperature.
9. Stop the enzymatic reaction by adding **50 µl** of Stop Solution to each well.
10. Read the OD at **450±10 nm** with a microtiterplate reader **within 10 minutes** after adding the Stop Solution.

6.3 Calculation of Results

1. Calculate the average absorbance values for each set of calibrators, controls and patient samples.
2. Construct a calibration curve by plotting the mean absorbance obtained from each calibrator against its concentration with absorbance value on the vertical(Y) axis and concentration on the horizontal (X) axis.
3. Using the mean absorbance value for each sample determine the corresponding concentration from the calibration curve.
4. Automated method: The results in the IFU have been calculated automatically using a 4 PL (4 Parameter Logistics) curve fit. 4 Parameter Logistics is the preferred method. Other data reduction functions may give slightly different results.
5. The concentration of the samples can be read directly from this calibration curve. Samples with concentrations higher than that of the highest calibrator have to be further diluted. For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

6.3.1 Example of Typical Calibration Curve

The following data is for demonstration only and **cannot** be used in place of data generations at the time of assay.

Calibrator	Optical Units (450 nm)
Calibrator 0 (0 µg/ml)	1.69
Calibrator 1 (0.1 µg/ml)	1.35
Calibrator 2 (0.5 µg/ml)	0.93
Calibrator 3 (1.0 µg/ml)	0.67
Calibrator 4 (2.5 µg/ml)	0.46
Calibrator 5 (5.0 µg/ml)	0.33
Calibrator 6 (10.0 µg/ml)	0.23

7 EXPECTED VALUES

It is strongly recommended that each laboratory should determine its own normal and abnormal values.

In a study conducted with apparently normal healthy adults, using the DHEA-S ELISA the following values are observed:

Men	< 50 years	0.59 – 2.96 µg/mL
	> 50 years	mean: 1.01 µg/mL
Women	< 50 years	0.40 – 2.17 µg/mL
	> 50 years	mean: 0.63 µg/mL

8. QUALITY CONTROL

Good laboratory practice requires that controls be run with each calibration curve. A statistically significant number of controls should be assayed to establish mean values and acceptable ranges to assure proper performance.

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results. Use controls at both normal and pathological levels.

The controls and the corresponding results of the QC-Laboratory are stated in the QC certificate added to the kit. The values and ranges stated on the QC sheet always refer to the current kit lot and should be used for direct comparison of the results.

It is also recommended to make use of national or international Quality Assessment programs in order to ensure the accuracy of the results.

Employ appropriate statistical methods for analysing control values and trends. If the results of the assay do not fit to the established acceptable ranges of control materials patient results should be considered invalid.

In this case, please check the following technical areas: Pipetting and timing devices; photometer, expiration dates of reagents, storage and incubation conditions, aspiration and washing methods.

After checking the above mentioned items without finding any error contact your distributor or DIAsource directly.

9. ASSAY CHARACTERISTICS

9.1 Assay Dynamic Range

The range of the assay is between 0 – 10 µg/mL.

9.2 Specificity of Antibodies (Cross Reactivity)

The following substances were tested for cross reactivity of the assay:

Steroid	% Crossreactivity
DHEA-S	100.0
Androstenedione	20.9
Androsterone	8.5
Androsterone-Sulfate	< 0.1
Progesterone	4.7
Testosterone	0.3
Estrone	0.9
Estriol	< 0.1
17-β-Estradiol	< 0.1
Estradiol Sulfate	< 0.1
Cortisol	< 0.1

9.3 Analytical Sensitivity

The analytical sensitivity was calculated from the mean minus two standard deviations of twenty (20) replicate analyses of *Calibrator 0* and was found to be 0.044 µg/mL.

9.4 Precision

9.4.1 Intra Assay Variation

The within assay variability is shown below:

Sample	n	Mean (µg/mL)	CV (%)
1	20	0.2	4.6
2	20	1.3	5.1
3	20	4.2	4.7

9.4.2 Inter Assay Variation

The between assay variability is shown below:

Sample	Mean (µg/mL)	CV (%)
1	0.2	6.5
2	1.3	10.6
3	4.4	5.4

9.5 Recovery

Samples have been spiked by adding DHEA-S solutions with known concentrations in a 1:1 ratio.

The expected values were calculated by addition of half of the values determined for the undiluted samples and half of the values of the known solutions. The % Recovery has been calculated by multiplication of the ratio of the measurements and the expected values with 100.

Sample	Added Concentration 1:1 (v/v) (µg/mL)	Measured Conc. (µg/mL)	Expected Conc. (µg/mL)	Recovery (%)
1	--	0.2	0.20	100
	1.0	0.7	0.60	109
	2.5	1.4	1.35	106
	5.0	2.8	2.60	108
2	--	1.1	1.10	100
	1.0	1.1	1.05	101
	2.5	2.1	1.80	114
	5.0	3.4	3.05	110
3	--	3.8	3.80	100
	2.5	2.8	3.15	91
	5.0	4.3	4.40	97
	10.0	7.0	6.90	102

9.6 Linearity

Sample	Dilution	Mean Conc. (µg/ml)	Recovery (%)
1	None	4.825	-
	1:2	2.505	104
	1:4	1.191	99
	1:8	0.644	107
	1:16	0.320	106
2	None	1.147	-
	1:2	0.620	108
	1:4	0.310	108
	1:8	0.153	107
	1:16	0.078	109
3	None	4.200	-
	1:2	2.116	101
	1:4	1.024	98
	1:8	0.486	93
	1:16	0.264	101

10. LIMITATIONS OF USE

Any improper handling of samples or modification of this test might influence the results.

Interfering Substances

Haemoglobin (up to 4 mg/mL), Bilirubin (up to 0.5 mg/mL) and Triglyceride (up to 7.5 mg/mL) have no influence on the assay results.

Drug Interferences

Until today no substances (drugs) are known to us, which have an influence to the measurement of DHEA-S in a sample.

High-Dose-Hook Effect

No hook effect was observed in this test.

11. LEGAL ASPECTS

Reliability of Results

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable national standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications. In case of any doubt or concern please contact DIAsource.

Therapeutical Consequences

Therapeutical consequences should never be based on laboratory results alone even if all test results are in agreement with the items as stated under point 11.1. Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of a patient.

Only in cases where the laboratory results are in acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient should therapeutical consequences be derived.

The test result itself should never be the sole determinant for deriving any therapeutical consequences.

Liability

Any modification of the test kit and/or exchange or mixture of any components of different lots from one test kit to another could negatively affect the intended results and validity of the overall test. Such modification and/or exchanges invalidate any claim for replacement.

Claims submitted due to customer misinterpretation of laboratory results subject to point 11.2. are also invalid. Regardless, in the event of any claim, the manufacturer's liability is not to exceed the value of the test kit. Any damage caused to the test kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer.

12. REFERENCES

1. Tietz, N. W., Textbook of Clinical Chemistry, Saunders, 1968

Revision date : 2011-02-25



DHEA-S ELISA

es

KAPD1562

Para uso diagnóstico *in vitro*

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax : +32 10 84 99 90

1 INTRODUCCIÓN

El Kit de inmunoensayo enzimático DIAsource DHEA-S proporciona los materiales necesarios para la determinación cuantitativa del DHEA-S en suero y plasma.

Este ensayo está diseñado solo para diagnóstico *in vitro*.

Dehidroepiandrosterona (5-Androsteno-3 β -0L-17-uno, Androstenolona, Dehidroisoandrosterona, Transdehidroandrosterona, DHEA) es una hormona esteroideal presente en la sangre principalmente como sulfato (DHEA-S).

DHEA-S es un producto específico de las suprarrenales y las mediciones de este esteroide son ampliamente utilizadas en la práctica clínica. La importancia clínica de la prueba plasmática de DHEA-S está asociada al diagnóstico de hiperplasia suprarrenal y el diagnóstico diferencial de hirsutismo (1).

2 FUNDAMENTO DEL ENSAYO

El Kit DIAsource DHEA-S ELISA es un ensayo en fase sólida de inmunoabsorción unido a enzimas (ELISA), basado en el principio de unión competitiva.

Los pocillos de las placas están recubiertos con un anticuerpo policlonal dirigido contra un foco antigénico en la molécula DHEA-S. En las muestras de los pacientes DHEA-S compete con un conjugado DHEA-S -peroxidasa de rábano en la unión al anticuerpo inmovilizado. Después de la incubación el conjugado no unido se lava.


La cantidad de conjugado de peroxidasa unido es inversamente proporcional a la concentración de DHEA-S en la muestra. Después de la adición de la solución sustrato, la intensidad de color desarrollado es inversamente proporcional a la concentración de DHEA-S en la muestra del paciente

3 PRECAUTIONS

- Este kit es solamente para diagnóstico *in vitro*.
- Para obtener información de las sustancias peligrosas incluidas en el kit por favor mirar las hojas de los datos de seguridad del material.
- Todos los reactivos en este kit de ensayo que contienen suero o plasma humano se han ensayado y confirmado ser negativos para HIV I/II, HBsAg y HCV mediante procedimientos aprobados por la FDA. Sin embargo, todos los reactivos deben ser tratados tanto en su uso como dispensación como potencialmente biopeligrosos.
- Evitar contacto con *Stop Solution* que contiene H₂SO₄ 0,5 M. Puede provocar irritación y quemaduras en la piel.
- Nunca pipetear con la boca y evitar el contacto de los reactivos y las muestras con la piel y con membranas mucosas.
- No fumar, comer, beber o usar cosméticos en áreas donde las muestras o los reactivos del kit están siendo usados.
- Usar guantes de látex cuando se utilicen las muestras y los reactivos. La contaminación microbiana de los reactivos o las muestras puede dar resultados erróneos.
- El manejo debe realizarse de acuerdo a los procedimientos definidos por las guías o regulación nacionales de seguridad de sustancias biopeligrosas.
- No utilizar los reactivos después de su fecha de caducidad que aparece en las etiquetas del kit.
- Todos los volúmenes indicados han de ser realizados de acuerdo con el protocolo. Los resultados óptimos del ensayo se obtienen solo cuando se utilizan pipetas y lectores de microplacas calibrados.
- No mezclar o usar componentes de kits con distinto número de lote. Se recomienda no intercambiar pocillos de distintas placas incluso si son del mismo lote. Los kits pueden haber sido enviados o almacenados bajo diferentes condiciones y las características de unión de las placas pueden resultar diferentes.
- Los compuestos químicos y los reactivos preparados o utilizados han de tratarse como residuos peligrosos de acuerdo con las guías o regulación nacionales de seguridad de sustancias biopeligrosas.

4 COMPONENTES DEL KIT

4.1 Componentes del kit

1.  12x8 tiras separables, 96 pocillos;
Pocillos recubiertos con anticuerpo anti-DHEA-S
2.

CAL	N
-----	---

 N=0 to 6
7 viales, 1 ml, listo para usar
Ver valor exacto en la etiqueta del vial
Conversión : 1 μ g/ml = 2,6 μ mol/l
Contiene 0,03% Proclin 300 y 0,005% gentamicin sulfate como conservante.
3.

Ag	HRP
----	-----

 Conjugado enzimático, 1 vial, 25 ml, listo para usar
DHEA-S conjugado con la Peroxidasa de rábano;
* Contiene 0,03% Proclin 300, 0,015% BND y 0,010% MIT como conservante
4.

CHROM	TMB
-------	-----

 Solución de sustrato, 1 vial, 14 ml, listo para usar
TMB

5.

STOP	SOLN
------	------

 Solución de parada, 1 vial, 14 ml, listo para usar contiene 0,5M H₂SO₄
Evitar el contacto con la Solución de parada. Puede causar irritación y quemaduras en la piel.

6.

WASH	SOLN	CONC
------	------	------

 Solución de lavado, 1 vial, 30 ml (concentrado 40X)
ver "Preparación de los Reactivos".

* BND = 5-bromo-5-nitro-1,3-dioxane (Bromonitrodioxano)
MIT = 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (Metilisotiazolona)

Nota: Se puede solicitar el Calibrador 0 para la dilución de la muestra.

4.1.1 Equipamiento y material requerido pero no provisto

1. Lector de microplacas calibrado (450±10 nm)
2. Micropipetas de precisión variable calibradas.
3. Papel absorbente.
4. Agua destilada.

4.2 Almacenamiento y estabilidad del kit

Cuando se almacena a 2-8°C, los reactivos sin abrir mantienen su reactividad hasta la fecha de caducidad. No utilizar los reactivos más allá de esta fecha.

Los reactivos abiertos han de almacenarse a 2-8°C. Las placas multipocillo han de almacenarse a 2-8°C. Una vez se ha abierto la bolsa hay que tener cuidado y cerrarla de nuevo.

4.3 Preparación de los Reactivos

Dejar que todos los reactivos y el número requerido de tiras alcancen la temperatura ambiente antes de usarse.

Solución de lavado

Agregue agua desionizada a la Solución de Lavado conc. 40X.

Mezclar 30 mL de la solución de lavado concentrada con 1170 mL de agua desionizada hasta un volumen final de 1200 mL.

La solución del lavado diluida es estable durante 2 semanas a temperatura ambiente.

4.4 Eliminación del Kit

La eliminación del kit debe realizarse de acuerdo con las leyes nacionales. En las hojas de datos de seguridad se proporciona información especial de este producto.

5 MUESTRAS

En este ensayo pueden usarse suero o plasma (plasma EDTA, Heparina o citrato).

No usar muestras hemolizadas, ictericas o lipémicas.

Tener en cuenta: No deben usarse muestras que contengan azida sódica.

5.1 Toma de muestras

Suero:

Recoger la sangre por punción en la vena (ej. Sarstedt Monovette # 02.1388.001), permitir coagulación, y separar el suero por centrifugación a temperatura ambiente. No centrifugar antes de la coagulación completa. Las muestras de pacientes que reciben terapia anticoagulante requieren más tiempo para coagular.

Plasma:

Toda la sangre ha de recogerse en tubos de centrifuga que contengan anticoagulante y centrifugar inmediatamente tras la recogida.

(Ej. Para plasma EDTA Sarstedt Monovette – tapa roja - # 02.166.001; para plasma Heparina Sarstedt Monovette – tapa naranja - # 02.165.001; para plasma Citrato Sarstedt Monovette – tapa verde - # 02.167.001.)

5.2 Almacenamiento de las muestras

Las muestras deben ser tapadas y pueden ser almacenadas hasta 5 días a 2 °C – 8 °C antes del ensayo.

Las muestras almacenadas por un período de tiempo mas largo han de congelarse sólo una vez a -20°C antes del ensayo. Las muestras des-congeladas deben invertirse varias veces antes del ensayo.

5.3 Dilución de las muestras

Si en un ensayo inicial, se encuentra una muestra que presenta valores mayores que el calibrador mas concentrado, ha de diluirse con *Calibrador 0* y volver a ensayarse como se describe en el Procedimiento de Ensayo.

Para el cálculo de las concentraciones habrá que tener en cuenta el factor de dilución.

Ejemplo:

a) dilución 1:10: 10 µL Suero + 90 µL *Calibrador 0* (mezclar totalmente)

b) dilución 1:100: 10 µL dilución a) 1:10 + 90 µL *Calibrador 0* (mezclar totalmente).

6 PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

6.1 Consideraciones generales

- Todos los reactivos y muestras han de estar a temperatura ambiente antes de su uso. Todos los reactivos deben mezclarse sin formar espuma.
- Una vez se ha comenzado el ensayo deben completarse todos los pasos sin interrupción.
- Utilizar puntas de pipeta de plástico nuevas para cada estándar, control o muestra para evitar combinaciones cruzadas.

- La absorbancia es función del tiempo de incubación y la temperatura. Antes de comenzar el ensayo, se recomienda que todos los reactivos estén preparados, tapas removidas, todos los pocillos que se necesiten asegurados en recipiente, etc. Esto asegurará un tiempo similar para cada paso de pipeteo sin que haya interrupciones.
- Como regla general, la reacción enzimática es linealmente proporcional al tiempo y a la temperatura.

6.2 Procedimiento de ensayo

Cada uno debe incluir una curva de calibradores.

1. Asegurar el número deseado de pocillos en el recipiente.
2. Dispensar **25 µL** de cada *Calibrador*, *Control* y muestras con puntas nuevas en los pocillos adecuados.
3. Dispensar **200 µL** de *Conjugado enzimático* a cada pocillo. Mezclar totalmente durante 10 segundos. Es importante mezclar completamente en este paso.
4. Incubar durante **60 minutos** a temperatura ambiente (sin cubrir la placa).
5. Sacudir enérgicamente el contenido de los pocillos. Lavar los pocillos 3 veces con la *Solución de Lavado* diluida (400 µL por pocillo). Realizar un golpe seco de los pocillos contra el papel absorbente para eliminar las gotas residuales.
Nota importante:
La sensibilidad y la precisión de este ensayo se ve marcadamente influenciada por la realización correcta del proceso de lavado!
6. Adicionar **100 µL** de *Solución de sustrato* a cada pocillo.
7. Incubar durante **15 minutos** a temperatura ambiente.
8. Parar la reacción enzimática mediante la adición de **50 µL** de *Solución de parada* a cada pocillo.
9. Leer la OD a **450±10 nm** con un lector de microplacas **dentro de los 10 minutos** después de la adición de la *Solución de parada*.

6.3 Cálculo de los Resultados

1. Calcular los valores de absorbancia media para cada conjunto de calibradores, controles y muestras de pacientes.
2. Construir una curva estándar mediante la representación de la absorbancia media obtenida para cada calibrador frente a su concentración con el valor de absorbancia en el eje vertical (Y) y la concentración en el eje horizontal (X).
3. Usando el valor de absorbancia media de cada muestra determinar la concentración correspondiente a partir de la curva calibrador.
4. Método automatizado: Los resultados en la IFU se han calculado automáticamente usando una curva de regresión 4 PL (4 Parámetros Logísticos). Otras funciones de regresión darán lugar a resultados sensiblemente diferentes.
5. La concentración de la muestra puede leerse directamente de la curva de calibradores. Las muestras con concentraciones superiores al mayor calibrador han de diluirse. Para el cálculo de las concentraciones hay que tener en cuenta el factor de dilución.

6.3.1 EJEMPLO DE UNA CURVA ESTÁNDAR TÍPICA

Los siguientes datos son solamente para la explicación y no pueden ser utilizados en lugar de los datos generados en el momento del ensayo.

Calibrador	Unidades Ópticas (450 nm)
Calibrador 0 (0 µg/ml)	1,69
Calibrador 1 (0,1 µg/ml)	1,35
Calibrador 2 (0,5 µg/ml)	0,93
Calibrador 3 (1,0 µg/ml)	0,67
Calibrador 4 (2,5 µg/ml)	0,46
Calibrador 5 (5,0 µg/ml)	0,33
Calibrador 6 (10,0 µg/ml)	0,23

7 VALORES ESPERADOS

Se recomienda encarecidamente que cada laboratorio determine sus valores normales e inusuales.

En un estudio con adultos aparentemente sanos utilizando el DHEA-S ELISA se observaron los siguientes valores

Hombres	< 50 años	0,59 – 2,96 µg/mL
	> 50 años	valor medio: 1,01 µg/mL
Mujeres	< 50 años	0,40 – 2,17 µg/mL
	> 50 años	valor medio: 0,63 µg/mL

8. CONTROL DE CALIDAD

La buena práctica de laboratorio, requiere que se incluyan controles cada vez que se hace una curva de calibración. Un número de controles estadísticamente significativos deben ser incluidos en los ensayos para establecer valores promedio y rangos aceptables y así asegurar un desempeño adecuado.

Se recomienda usar muestras control de acuerdo con las leyes estatales y federales. El uso de muestras control se recomienda para asegurar la validez diaria de los resultados. Usar controles tanto a niveles normal como patológico.

Los controles y los correspondientes resultados del Laboratorio de control de calidad están fijados en el certificado de control de calidad que acompañan al kit. Los valores y los rangos fijados en la hoja del control de calidad se refieren siempre al kit actual y deben usarse para la comparación directa de los resultados.

Es recomendable también hacer uso de programas de Aseguramiento de la Calidad nacionales o internacionales para asegurar la exactitud de los resultados.

Utilizar métodos estadísticos apropiados para el análisis de los valores y tendencia de los controles. Si los resultados del ensayo no se ajustan a los rangos aceptables establecidos en los controles, los resultados obtenidos de los pacientes han de considerarse inválidos.

En este caso, por favor comprobar las siguientes áreas técnicas: Pipeteo y tiempo empleado, fotómetro, fecha de caducidad de los reactivos, condiciones de almacenamiento e incubación, métodos de aspiración y lavado.

Después de comprobar los asuntos mencionados arriba sin encontrar ningún error, contactar con su distribuidor o con DIAsource directamente.

9 CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

9.1 Rango dinámico del ensayo

El rango del ensayo se encuentra entre 0 – 10 µg/mL.

9.2 Especificidad de los Anticuerpos (Reactividad Cruzada)

Las siguientes sustancias fueron probadas para determinar reacción cruzada en el ensayo:

Esteroides	% Reactividad Cruzada
DHEA-S	100,0
Androstenedione	20,9
Androsterone	8,5
Androsterone-Sulfate	< 0,1
Progesterone	4,7
Testosterone	0,3
Estrone	0,9
Estriol	< 0,1
17-β-Estradiol	< 0,1
Estradiol Sulfate	< 0,1
Cortisol	< 0,1

9.3 Sensibilidad Analítica

La sensibilidad analítica se calculó a partir de la media menos dos desviaciones estándar de veinte (20) réplicas del *Calibrador 0* y resultó ser 0,044 µg/mL.

9.4 Precisión

9.4.1 Variación Intra Ensayo

La variabilidad del mismo ensayo se muestra abajo:

Muestra	n	Media (µg/mL)	CV (%)
1	20	0,2	4,6
2	20	1,3	5,1
3	20	4,2	4,7

9.4.2 Variación Intra Ensayo

La variabilidad entre diferentes ensayos se muestra abajo:

Muestra	Media (µg/mL)	CV (%)
1	0,2	6,5
2	1,3	10,6
3	4,4	5,4

9.5 Recuperación

Las muestras han sido adicionadas, agregando soluciones de concentraciones conocidas de DHEA-S en una razón de 1:1.

Los valores esperados se calcularon sumando la mitad de los valores determinados en las muestras no diluidas y la mitad de los valores de las soluciones conocidas. El % de Recuperación se ha calculado multiplicando por 100 la razón de las mediciones y los valores esperados.

Muestra	Conc. Agregada 1:1 (v/v) (µg/mL)	Conc. Medida (µg/mL)	Conc. Esperada (µg/mL)	Recuperado (%)
1	--	0,2	0,20	100
	1,0	0,7	0,60	109
	2,5	1,4	1,35	106
	5,0	2,8	2,60	108
2	--	1,1	1,10	100
	1,0	1,1	1,05	101
	2,5	2,1	1,80	114
	5,0	3,4	3,05	110
3	--	3,8	3,80	100
	2,5	2,8	3,15	91
	5,0	4,3	4,40	97
	10,0	7,0	6,90	102

9.6 Linealidad

Muestra	Dilución	Conc. Media (µg/ml)	Recuperado (%)
1	None	4,825	-
	1:2	2,505	104
	1:4	1,191	99
	1:8	0,644	107
	1:16	0,320	106
2	None	1,147	-
	1:2	0,620	108
	1:4	0,310	108
	1:8	0,153	107
	1:16	0,078	109
3	None	4,200	-
	1:2	2,116	101
	1:4	1,024	98
	1:8	0,486	93
	1:16	0,264	101

10 LIMITACIONES DE USO

Cualquier manipulación inadecuada de las muestras o modificaciones del ensayo pueden influenciar los resultados.

10.1 Sustancias que pueden interferir

Hemoglobina (hasta 4 mg/mL), Bilirrubina (hasta 0,5 mg/mL) y Triglicéridos (hasta 7,5 mg/mL) no influyen los resultados del ensayo.

10.2 Interferencias con drogas

Hasta ahora no se han encontrado sustancias (drogas) conocidas por nosotros, que tengan influencia en la medida de DHEA-S en una muestra.

10.3 Efecto Gancho-Dosis-Elevada

No se ha observado efecto gancho en este ensayo.

11 SPECTOS LEGALES

11.1 Fiabilidad de los Resultados

El ensayo debe realizarse exactamente de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Más aún, el usuario debe ajustarse estrictamente a las reglas BPL (Buenas Prácticas de Laboratorio) o a otros estándares y/o leyes nacionales aplicables. Esto es especialmente relevante para el uso de reactivos control. Es importante incluir siempre, dentro del procedimiento de ensayo, un número suficiente de controles para validar la exactitud y la precisión del ensayo.

Los resultados del ensayo son válidos sólo si todos los controles se encuentran dentro de los rangos especificados y si todos los otros parámetros del ensayo se encuentran dentro de las especificaciones dadas para el ensayo. En caso de alguna duda o inquietud, por favor, contactar con DIAsource.

11.2 Consecuencias Terapéuticas

Las consecuencias terapéuticas nunca deben basarse sólo en los resultados de laboratorio incluso si todos los resultados del ensayo están de acuerdo con los asuntos fijados en el punto 11.1. Cualquier resultado de laboratorio es solamente una parte del cuadro clínico de un paciente. Solamente en los casos donde los resultados de laboratorio están en acuerdo con todo el cuadro clínico de un paciente, se pueden derivar consecuencias terapéuticas.

Nunca deben derivarse consecuencias terapéuticas a partir de solamente el resultado obtenido en el ensayo

11.3 Responsabilidad

Cualquier modificación del kit y/o cambio o mezcla de cualquier componente procedentes de kits de lotes diferentes puede afectar negativamente a los resultados esperados y en la validez de todo el test. Esas modificaciones y/o cambios invalidan cualquier reclamación de reposición.

Las reclamaciones emitidas debidas a una mala interpretación de los resultados de laboratorio por parte del comprador referidos al punto 11.2 son también inválidas. A pesar de todo, en el caso de cualquier reclamación, la responsabilidad del fabricante no excede el valor del kit. Cualquier daño provocado al kit durante su transporte no está sujeto a la responsabilidad del fabricante.

10. REFERENCIAS

1. Tietz, N. W., Textbook of Clinical Chemistry, Saunders, 1968

fecha de revision: 2011-02-25



DHEA-S ELISA

pt

KAPD1562

Uso para Diagnóstico in vitro

DIASource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax : +32 10 84 99 90

1 INTRODUÇÃO

O Kit de Imunoensaio Enzimático **DIASource DHEA-S** fornece materiais para determinação quantitativa de DHEA-S no soro ou plasma. **Este ensaio é somente para uso em diagnóstico in vitro.**

Dehidroepiandrosterona (5-Androstena-3 β -0L-17-uma, Androstenolona, Dehidroisoandrosterona, Transdehidroandrosterona, DHEA) é um hormônio esteroide presente no sangue na maioria das vezes na sua forma sulfato (DHEA-S).

DHEA-S é o produto mais específico das adrenais e as medidas destes esteróides são amplamente usadas na prática clínica. A importância clínica dos ensaios de plasma de DHEA-S está associada com o diagnóstico da hiperplasia adrenal e diagnóstico diferencial de hirsutismo (1).

2 PRINCÍPIO DO TESTE

O Kit ELISA DIASource DHEA-S é um ensaio imunoenzimático de fase sólida (ELISA), baseado no princípio da ligação competitiva.

Os poços microtitulados são cobertos com anticorpo policlonal direcionados diretamente a sítios antigênicos na molécula de DHEA-S. Amostras de pacientes com DHEA-S endógena compete com o conjugado DHEA-S-marcado com peroxidase por sítios de ligações nos anticorpos adsorvidos. Após incubação o conjugado não ligado é retirado.

A quantidade de conjugado peroxidase ligado é inversamente proporcional à concentração de DHEA-S na amostra. Após adição do substrato, a intensidade da cor desenvolvida é inversamente proporcional à concentração de DHEA-S na amostra do paciente.

3 PRECAUÇÕES

- Este kit é somente para uso em diagnóstico in vitro.
- Para informações sobre substâncias perigosas incluídas neste kit por favor, leia a Bula de dados dos cuidados com materias.
- Todos os reagentes deste kit que contenham soro humano ou plasma foram testados e confirmados como negativos para HIV I/II, HBsAg e HCV por procedimentos aprovados pelo FDA. Todos os reagentes entretanto, devem ser tratados como risco biológico durante o uso e o descarte.
- Evite contato com a solução de parada pois contém 0,5M H₂SO₄. E pode causar irritações na pele e queimaduras.
- Nunca pipete com a boca e evite contato de reagentes e amostras com a pele e membranas mucosas.
- Não fume, coma, beba, ou aplique cosméticos em áreas onde amostras ou reagentes são manipulados.
- Use luvas de látex descartáveis ao manusear amostras e reagentes. Contaminação microbiológica dos reagentes ou amostras podem dar resultados falsos negativos.
- Manuseio deve ser de acordo com os procedimentos definidos por regulamentação ou diretriz nacional de segurança de biológicos.
- Não use reagentes depois de vencido o prazo de validade mostrado nas etiquetas.
- Todos os volumes indicados devem ser realizados de acordo com o protocolo. Resultados ótimos dos testes somente são obtidos quando usadas pipetas calibradas.
- Não misture ou use componentes de kits de lotes diferentes. Não é aconselhável trocar os poços de placas diferentes mesmo no mesmo lote. Este kit pode ser guardado ou estocado sob diferentes condições e as características de ligação das placas podem resultar em pequenas diferenças.
- Reagentes químicos, preparados ou usados devem ser tratados como lixo perigoso de acordo com as diretrizes ou regulamentações de segurança biológica.

4 COMPONENTES DO KIT

4.1 Conteúdo do Kit

1.

TLT

 12x8 tiras (separadas), 96 poços cobertos com anticorpo anti-DHEA-S
2.

CAL	N
-----	---

 N=0 to 6
7 frascos, 1 ml, pronto para uso
Veja os valores exatos nas etiquetas dos frascos
Conversão : 1 μ g/ml = 2.6 μ mol/l
Contem 0,03% de Proclina 300 + 0,005% sulfato de gentamicina como preservativos
3.

Ag	HRP
----	-----

 Enzima Conjugado, 1 frasco, 25 ml, pronto para uso
DHEA-S conjugada com peroxidase
*Contem 0,03% de Proclina 300, 0,015% BND e 0,010% MIT como preservativos
4.

CHROM	TMB
-------	-----

 Solução Substrato, 1 frasco, 14 ml, pronto para uso
TMB
5.

STOP	SOLN
------	------

 Solução de Parada, 1 frasco, 14 ml, pronto para uso
contendo 0,5M H₂SO₄
Evite contato com a solução de parada. Pode causar irritações na pele e queimaduras.
6.

WASH	SOLN	CONC
------	------	------

 Solução de lavagem, 1 frasco, 30 ml (40X concentrado)
Veja "Preparação de Reagentes "

- * BND = 5-bromo-5-nitro-1,3-dioxane
MIT = 2-metil-2H-isotiazol-3-um

Nota: Calibrador 0 adicional para diluição de amostra esta disponível sob pedido.

4.1.1 Equipamento e material requerido mas não fornecido

- Leitor de microplacas calibrado (450±10 nm).
- Micropipetas variáveis calibradas de precisão.
- Papel absorvente.
- Água dest.

4.2 Estocagem e estabilidade do kit

Quando estocados fechados a 2° a 8°C os reagentes reagem até a data de validade. Não use reagentes após vencido o prazo de validade. Reagentes abertos devem ser estocados entre 2° e 8°C. Poços microtitulados devem ser estocados entre 2° e 8°C. Kits abertos mantem a atividade por 6 semanas se estocados como descrito acima.

4.3 Preparação dos Reagentes

Permitir todos reagentes e tiras necessárias, alcançar a temperatura ambiente antes do uso.

Solução de lavagem

Adicione água deionizada para uma solução de lavagem 40x concentrada (contém: 30 ml) para um volume final de 1200 ml. A solução de lavagem diluída é estável por 2 semanas a temperatura ambiente.

4.4 Disposição do kit

O descarte do kit deve ser feito de acordo com as regulamentações nacionais. Informações especiais sobre os produtos são encontradas nas Folhas de Material de Segurança.

5. AMOSTRA

Soro ou plasma (EDTA-, Heparina- ou plasma citrato) pode ser usado neste ensaio

Não use soro hemolizado, lipêmico ou icterico.

Observe: Amostras contendo azida sodica nao devem ser usadas neste ensaio

5.1 Coleta da amostra

Soro:

Colete o sangue por venopunção (e.x. Sarstedt Monovette # 02.1388.001), deixe coagular, separar o soro por centrifugação a temperatura ambiente. Não centrifugue antes de completar a coagulação. Pacientes recebendo terapia anticoagulante podem precisar de mais tempo para coagulação.

Plasma :

Sangue total deve ser coletado dentro de tubos contendo anti-coagulante e centrifugados imediatamente após coleta.

(Ex para plasma EDTA Sarstedt Monovette – tampa vermelha - # 02.166.001; para Heparina plasma Sarstedt Monovette – tampa laranja- # 02.165.001; para Citrato plasma Sarstedt Monovette – tampa verde - # 02.167.001.)

5.2 Recolha da amostra

Amostras devem ser cobertas e podem ser estocadas por ate 5 dias à 2-8°C antes do teste.

Amostras que precisarem de um longo tempo devem ser congeladas somente uma vez a -20°C antes do ensaio. Amostras descongeladas devem ser invertidas muitas vezes antes de serem testadas.

5.3 Diluição da amostra

Se no ensaio inicial, for encontrada uma amostra contendo mais que o maior calibrador, as amostras podem ser diluídas com o calibrador 0 e reanalisadas como descrito no procedimento do ensaio.

Para cálculo das concentrações o fator de diluição tem que estar dentro de uma estimativa.

Exemplo:

- Diluição 1:10: 10 µL Soro + 90 µL *Calibrador 0* (mexa vigorosamente)
- Diluição 1:100: 10 µL diluição a) 1:10 + 90 µL *Calibrador 0* (mexa vigorosamente).

6 PROCEDIMENTO DO TESTE

6.1 Notas gerais

- Todos os reagentes e amostras devem ser usados à temperatura ambiente. Todos os reagentes devem ser misturados sem espumar.
- Uma vez começado o teste todos os passos devem ser completados sem interrupção.
- Use ponteiras novas para cada calibrador e amostra controle, a fim de evitar contaminação cruzada.
- Absorbância é a função do tempo de incubação e temperatura. Antes de começar o ensaio, é recomendado que todos os reagentes estejam prontos, tampas removidas, todos os poços necessários destampados, etc. Isto assegurara tempo igual para cada passo de pipetagem sem interrupção.
- Como regra geral à reação enzimática é linearmente proporcional ao tempo e temperatura

6.2 Procedimento do ensaio

Cada corrida deve incluir uma curva de calibração

1. Separe o número de poços desejados da microplaca.
2. Dispense **25 µl** de cada calibrador, controle e amostras com ponteiras novas dentro dos poços apropriados.
3. Dispense **200 µl** da Enzima Conjugada dentro de cada poço.
4. Agite vigorosamente por 10 segundos. É importante ter uma mistura completa neste passo.
5. Incube por **1 hora** a temperatura ambiente sem cobrir a placa

6. Dispense o conteúdo dos poços vigorosamente.
Enxague os poços 3 vezes com água destilada (400 µl por poço). Vire os poços no papel absorvente para remover resíduos de água.
Nota Importante:
A sensibilidade e precisão deste ensaio são influenciadas pela performance correta dos procedimentos de lavagem!
7. Adicione **100 µl** de Solução Substrato para cada poço.
8. Incubar por **15 minutos** a temperatura ambiente.
9. Pare a reação enzimática adicionando **50 µl** de solução de parada em cada poço.
10. Leia no leitor de microplacas dentro de 10 minutos **após parar o teste**, com uma OD de **450±10 nm**.

6.3 Cálculo dos Resultados

1. Calcule os valores médios das absorbâncias para cada conjunto de calibradores, controles e amostras dos pacientes.
2. Construa a curva de calibração plotando a média da absorbância obtida para cada calibrador contra sua concentração com o valor da absorbância no eixo vertical (Y) e a concentração no eixo horizontal (X).
3. Usando o valor médio de absorbância para cada amostra determine a concentração na curva de calibração. Dependendo da experiência e/ou da capacidade de avaliação do computador, outros métodos de redução de dados podem ser empregados.
4. Método Automatizado:
5. As concentrações das amostras podem ser lidas diretamente na curva de calibração. Amostras com valores maiores que o calibrador mais alto devem ser diluídas. Para cálculo das concentrações o fator de diluição tem que ser considerado.

6.3.1 Exemplo de uma curva típica de calibração

Os dados a seguir são somente pra demonstração e não podem ser usados no lugar de dados gerados durante o ensaio.

Calibrador	Unidade Ótica (450nm)
Calibrador 0 (0 µg/ml)	1,69
Calibrador 1 (0.1 µg/ml)	1,35
Calibrador 2 (0.5 µg/ml)	0,93
Calibrador 3 (1.0 µg/ml)	0,67
Calibrador 4 (2.5 µg/ml)	0,46
Calibrador 5 (5.0 µg/ml)	0,33
Calibrador 6 (10.0 µg/ml)	0,23

7 VALORES ESPERADOS

É recomendado que cada laboratório determine seus próprios valores normais e anormais.

Em um estudo conduzido com adultos aparentemente normais, usando ELISA DHEA-S os seguintes valores são observados:

Homens

< 50 anos	0,59 – 2,96 µg/mL
> 50 anos	média: 1,01 µg/mL

Mulheres

< 50 anos	0,40 – 2,17 µg/mL
> 50 anos	média: 0,63 µg/mL

8 CONTROLE DE QUALIDADE

Boas práticas de laboratório requerem que os controles sejam incluídos em cada corrida da curva de calibração. Um número estatisticamente significativo deve ser analisado para se estabelecer as médias dos valores e alcance aceitável para assegurar a performance.

É recomendado o uso de amostras controle de acordo com as regulamentações federais e estaduais. O uso de amostras controle é aconselhável para assegurar a validade dos resultados dia a dia. Use controles para níveis normais e patológicos.

Os controles e correspondentes resultados do QC-Laboratório estão no certificado QC adicionado ao kit. Os valores nas folhas QC sempre se referem ao lote do kit corrente e deve ser usado para comparação direta dos resultados.

É também recomendado o uso de programas nacionais ou internacionais de qualidade a fim de aumentar a acurácia dos resultados.

Empregue métodos estatísticos apropriados para análise dos valores de controle e tendências. Se os resultados do ensaio não estiverem dentro das médias aceitáveis de controle de materiais, os resultados dos pacientes devem ser invalidados.

Neste caso, cheque as áreas técnicas a seguir: Pipetagem e tempos gastos; fotômetro, data de validade dos reagentes, estocagem e condições de incubação, aspiração e métodos de lavagem.

Após checagem dos itens acima mencionados sem encontrar nenhum erro contate seu distribuidor ou a DIAsource diretamente.

9 CARACTERÍSTICAS DO ENSAIO

9.1 Alcance Dinâmico do Ensaio

O alcance deste ensaio esta entre 0 – 10 ng/mL

9.2 Especificidade de Anticorpos (Reação Cruzada)

As substâncias a seguir foram testadas para reação cruzada do ensaio:

Esteróide	% Reação Cruzada
DHEA-S	100,0
Androstenedione	20,9
Androsterone	8,5
Androsterone-Sulfate	< 0,1
Progesterone	4,7
Testosterone	0,3
Estrone	0,9
Estriol	< 0,1
17-β-Estradiol	< 0,1
Estradiol Sulfate	< 0,1
Cortisol	< 0,1

9.3 Sensibilidade Analítica

A sensibilidade analítica foi calculada da média menos dois desvios padrões de vinte (20) replicatas do calibrador 0 e foi encontrado 0,044 ng/mL.

9.4 Precisão

9.4.1 Variação Intra Ensaio

A variabilidade dentro do ensaio é mostrada abaixo

Amostra	n	Média (µg/mL)	CV (%)
1	20	0,2	4,6
2	20	1,3	5,1
3	20	4,2	4,7

9.4.2 Variação Inter Ensaio

A variabilidades entre os ensaios é mostrada abaixo

Amostra	Média (µg/mL)	CV (%)
1	0,2	6,5
2	1,3	10,6
3	4,4	5,4

9.5 Recuperação

Amostras devem ser colocadas adicionando solução DHEA-S com concentrações conhecidas na proporção 1:1 .

Os valores esperados são calculados por adição de metade dos valores determinados para amostras sem diluir e metade dos valores de soluções conhecidas. A % de recuperação deve ser calculada por multiplicação da média das medidas e dos valores esperados por 100.

Amostra	Conc. Adicionado 1:1 (v/v) (µg/mL)	Conc. Medida (µg/mL)	Conc. Esperada (µg/mL)	Recuperado(%)
1	--	0,2	0,20	100
	1,0	0,7	0,60	109
	2,5	1,4	1,35	106
	5,0	2,8	2,60	108
2	--	1,1	1,10	100
	1,0	1,1	1,05	101
	2,5	2,1	1,80	114
	5,0	3,4	3,05	110
3	--	3,8	3,80	100
	2,5	2,8	3,15	91
	5,0	4,3	4,40	97
	10,0	7,0	6,90	102

9.6 Linearidade

Amostra	Diluição	Med Conc. (µg/ml)	Recuperado (%)
1	None	4,825	-
	1:2	2,505	104
	1:4	1,191	99
	1:8	0,644	107
	1:16	0,320	106
2	None	1,147	-
	1:2	0,620	108
	1:4	0,310	108
	1:8	0,153	107
	1:16	0,078	109
3	None	4,200	-
	1:2	2,116	101
	1:4	1,024	98
	1:8	0,486	93
	1:16	0,264	101

10 LIMITAÇÕES DE USO

Qualquer manuseio impróprio das amostras ou modificação deste teste pode influenciar nos resultados.

10.1 Substâncias interferentes

Haemoglobina (acima de 4 mg/mL), Bilirubina (acima de 0.5 mg/mL) e Triglycerides (acima de 7.5 mg/mL) não tem influencia nos resultados deste ensaio.

10.2 Interferências por Drogas

Até hoje não é conhecida por nós, nenhuma substância (droga) capaz de influenciar na mensuração da DHEA-S na amostra.

10.3 Alta-Dose Efeito-Rebote

Não foi observado efeito rebote neste teste..

11 ASPECTOS LEGAIS

11.1 Confiança dos resultados

O teste deve ser realizado exatamente como nas instruções para uso do fabricante. Além do que, o uso deve aderir estritamente às regras do GLP (Boas Práticas Laboratoriais) ou outros padrões nacionais aplicáveis e/ou leis. Isto é especialmente relevante para o uso de controle dos reagentes. É importante sempre incluir, dentro do procedimento do teste, um número de controle para validar a acuracia e precisão do teste.

Os resultados dos testes são validos somente se todos controles estiverem dentro dos valores especificados e se todos os outros parâmetros do teste também estiverem dentro das especificações do ensaio.

11.2 Consequências Terapêuticas

Consequências terapêuticas nunca devem se basear somente em resultados laboratoriais mesmo se todos os resultados dos testes estiverem em concordância com os pontos descritos no item 11.1. Qualquer resultado laboratorial é somente parte de um quadro clinico do paciente.

Somente os casos onde os resultados laboratoriais estão em concordância com todo o quadro clinico do paciente, deve ser deduzida uma consequência terapêutica.

O resultado do teste por si só nunca deve ser determinante para deduzir uma terapia.

11.3 Responsabilidade

Qualquer modificação do kit e/ou troca ou mistura de qualquer componente de lotes diferentes com outro kit podem afetar negativamente a intenção dos resultados e a validade de todo o teste. Como também qualquer modificação e/ou troca, invalida qualquer alegação para reposição.







Alegações submetidas devida a interpretações erradas do cliente de resultados laboratoriais sujeitas ao item 11.2 também são invalidas.

Indiferentemente, no evento de qualquer alegação, a responsabilidade do fabricante é não exceder o valor do kit. Qualquer prejuízo causado ao kit durante o transporte não está sujeito à responsabilidade do fabricante.

1. REFERENCIAS

1. Tietz, N. W., Textbook of Clinical Chemistry, Saunders, 1968

Data da revisão: 2011-02-25

	Used symbols
	Consult instructions for use
	Storage temperature
	Use by
LOT	Batch code
REF	Catalogue number
CONTROL	Control
I V D	In vitro diagnostic medical device
	Manufacturer
	Contains sufficient for <n> tests
WASH SOLN CONC	Wash solution concentrated
CAL 0	Zero calibrator
CAL N	Calibrator #
CONTROL N	Control #
Ag 1251	Tracer
Ab 1251	Tracer
Ag 1251 CONC	Tracer concentrated
Ab 1251 CONC	Tracer concentrated
	Tubes
INC BUF	Incubation buffer
ACETONITRILE	Acetonitrile
SERUM	Serum
DIL SPE	Specimen diluent
DIL BUF	Dilution buffer
ANTISERUM	Antiserum
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbent
DIL CAL	Calibrator diluent
REC SOLN	Reconstitution solution
PEG	Polyethylene glycol
EXTR SOLN	Extraction solution
ELU SOLN	Elution solution
GEL	Bond Elut Silica cartridges
PRE SOLN	Pre-treatment solution
NEUTR SOLN	Neutralization solution
TRACEUR BUF	Tracer buffer
µP	Microtiterplate
Ab HRP	HRP Conjugate
Ag HRP	HRP Conjugate
Ab HRP CONC	HRP Conjugate concentrate
Ag HRP CONC	HRP Conjugate concentrate
CONJ BUF	Conjugate buffer
CHROM TMB CONC	Chromogenic TMB concentrate
CHROM TMB	Chromogenic TMB solution
SUB BUF	Substrate buffer
STOP SOLN	Stop solution
INC SER	Incubation serum
BUF	Buffer
Ab AP	AP Conjugate
SUB PNPP	Substrate PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotin conjugate concentrate
AVID HRP CONC	Avidine HRP concentrate
ASS BUF	Assay buffer
Ab BIOT	Biotin conjugate
Ab	Specific Antibody
SAV HRP CONC	Streptavidin HRP concentrate
NSB	Non-specific binding
2nd Ab	2nd Antibody
ACID BUF	Acidification Buffer
DIST	Distributor

	<u>Símbolos utilizados</u>
	Consultar las instrucciones de uso
	Limitación de temperatura
	Fecha de caducidad
LOT	Código de lote
REF	Número de catálogo
CONTROL	Control
I V D	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Fabricante
	Contenido suficiente para <n> ensayos
WASH SOLN CONC	Solución de lavado concentrada
CAL 0	Calibrador cero
CAL N	Calibrador #
CONTROL N	Control #
Ag 125I	Trazador
Ab 125I	Trazador
Ag 125I CONC	Trazador concentrada
Ab 125I CONC	Trazador concentrada
	Tubos
INC BUF	Tampón de incubación
ACETONITRILE	Acetonitrilo
SERUM	Suero
DIL SPE	Diluyente de Muestra
DIL BUF	Tampón de dilución
ANTISERUM	Antisuero
IMMUNOADSORBENT	Inmunoadsorbente
DIL CAL	Diluyente de calibrador
REC SOLN	Solución de Reconstitución
PEG	Glicol Polietileno
EXTR SOLN	Solución de extracción
ELU SOLN	Solución de elución
GEL	Cartuchos Bond Elut Silica
PRE SOLN	Solución de Pre-tratamiento
NEUTR SOLN	Solución de Neutralización
TRACEUR BUF	Tampón de trazador
TLU	Placa de microvaloración
Ab HRP	HRP Conjugado
Ag HRP	HRP Conjugado
Ab HRP CONC	HRP Conjugado concentrada
Ag HRP CONC	HRP Conjugado concentrada
CONJ BUF	Tampón de Conjugado
CHROM TMB CONC	Cromógena TMB concentrada
CHROM TMB	Solución Cromógena TMB
SUB BUF	Tampón de sustrato
STOP SOLN	Solución de Parada
INC SER	Suero de Incubación
BUF	Tampón
Ab AP	AP Conjugado
SUB PNPP	Sustrato PNPP
BIOT CONJ CONC	Concentrado de conjugado de biotina
AVID HRP CONC	Concentrado avidina-HRP
ASS BUF	Tampón de ensayo
Ab BIOT	Conjugado de biotina
Ab	Anticuerpo específico
SAV HRP CONC	Estreptavidina-HRP Concentrado
NSB	Unión no específica
2nd Ab	Segundo anticuerpo
ACID BUF	Tampón de Acidificación

	<u>Símbolos utilizados</u>
	Consulte instruções de utilização
	Temperatura de conservação
	Utilizar antes de
LOT	Código de lote
REF	Número de catálogo
CONTROL	Controlo
I V D	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Fabricante
	Conteúdo suficiente para <n> testes
WASH SOLN CONC	Solução de lavagem concentrada
CAL 0	Calibrador zero
CAL N	Calibrador #
CONTROL N	Controlo #
Ag 125I	Marcador
Ab 125I	Marcador
Ag 125I CONC	Marcador concentrada
Ab 125I CONC	Marcador concentrada
	Tubos
INC BUF	Tampão de incubação
ACETONITRILE	Acetonitrilo
SERUM	Soro
DIL SPE	Diluidor de espécimes
DIL BUF	Tampão de diluição
ANTISERUM	Anti-soro
IMMUNOADSORBENT	Imunoadsorvente
DIL CAL	Diluyente do calibrador
REC SOLN	Solução de Reconstituição
PEG	Poliétileno-glicol
EXTR SOLN	Solução de Extração
ELU SOLN	Solução de Eluição
GEL	Cartuchos de sílica Bond Elut
PRE SOLN	Solução de pré-tratamento
NEUTR SOLN	Solução de neutralização
TRACEUR BUF	Tampão Marcador
TLT	Placa de micro titulação
Ab HRP	HRP Conjugação
Ag HRP	HRP Conjugação
Ab HRP CONC	HRP Conjugação concentrada
Ag HRP CONC	HRP Conjugação concentrada
CONJ BUF	Conjuge o tampão
CHROM TMB CONC	Cromogénica TMB concentrada
CHROM TMB	Solução Cromogénica TMB
SUB BUF	Tampão de substrato
STOP SOLN	Solução de Paragem
INC SER	Soro de incubação
BUF	Tampão
Ab AP	AP Conjugação
SUB PNPP	Substrato PNPP
BIOT CONJ CONC	Concentrado conjugado de biotina
AVID HRP CONC	Concentrado HRP de avidina
ASS BUF	Tampão de ensaio
Ab BIOT	Conjugado de biotina
Ab	Anticorpo específico
SAV HRP CONC	Estreptavidina HRP concentrado
NSB	Ligações não específicas
2nd Ab	Anticorpo secundário
ACID BUF	Tampão de acidificação