



Neonatal 17 α -OH Progesterona (N-17OHP) Test System

Código de Producto: 5525-300

1.0 INTRODUCCION

Intención de uso: La determinación cuantitativa de la concentración de 17-hydroxiprogesterona en sangre total humana por Inmunoensayo enzimático de microplaca.

2.0 RESUMEN Y EXPLICACION DE LA PRUEBA

Los resultados son usados para el tamizaje en recién nacidos para CAH (hiperplasia adrenal congénita). La CAH es un desorden genético, el 90% de los cuales es causado por la deficiencia de 21-hidroxilasa. La incidencia es de aproximadamente 1 en 15.000 nacimientos y puede llegar tan alto como 1 en 1480 en los nativos de Alaska. El diagnóstico precoz es útil para detectar la CAH en los recién nacidos que sufren de la enfermedad, que clínicamente no es reconocible, pero conduce a tratar la crisis suprarrenal en el período neonatal y determinar la causa en los recién nacidos con genitales ambiguos. El retraso en el diagnóstico también puede conducir a una virilización mayor en niñas, aceleración de la maduración esquelética prematura y el desarrollo de las características sexuales secundarias en los niños varones. El tratamiento inmediato puede salvar la vida de los niños y en los niños afectados a alcanzar un crecimiento normal.

La 17-OHP es un esteroide producido en la corteza adrenal y en las gónadas. Este es un precursor inmediato del 11-desoxicortisol (CpS) el cual es convertido en cortisol. Debido a que CpS es producida por la hidroxilación de 21-17-OHP, la medición de 17-OHP es un indicador indirecto de la actividad de 21-hidroxilasa. La CAH se produce cuando hay una deficiencia de esta enzima. El resultado es una disminución en la conversión de 17-OHP a CpS lo cual bloquea la síntesis normal de cortisol. Debido al mecanismo de retroalimentación, una disminución en el cortisol provoca un aumento en la secreción de ACTH provocando la hiperplasia suprarrenal. Como 17-OHP no se convierte, se encontraron mayores concentraciones de este esteroide.

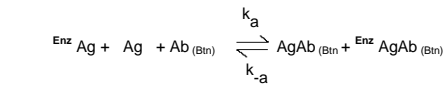
La concentración de 17-OHP aumenta durante el embarazo en la sangre materna y fetal. Después del nacimiento, los valores disminuyen rápidamente hasta alcanzar valores normales de adultos en 2 a 7 días. Por lo tanto, es aconsejable no tomar muestras antes del 3er día de vida. Los bebés prematuros y enfermos presentan valores de 17-OHP de 2 a 3 veces sin trastorno de CAH. Se sugiere adoptar un corte diferente para bebés prematuros y enfermos.

3.0 PRINCIPIO

Inmunoensayo Enzimático Competitivo (Tipo 7)

17 α -Hydroxiprogesterona (N17-OHP) de Monobind es un ensayo competitivo de fase sólida en muestras de sangre seca en papel de filtro WHATMAN903. En la prueba, el buffer de elusión, contiene anticuerpos biotinilados, y conjugados de peroxidasa 17-OHP de rábano picante (HRP) son adicionados a los reactantes mezclados.

La reacción de competencia resulta entre los conjugados de 17-OHP HRP y la 17-OHP eluida de la mancha de sangre seca para una cantidad limitada de anticuerpo biotinilado. Las interacciones se ilustran mediante la siguiente ecuación.



$\text{Ab}_{(\text{BtN})}$ = Anticuerpo Biotinilado específico (Cantidad Constante)
 Ag = Antígeno nativo (Cantidad variable)
 $\text{AgAb}_{(\text{BtN})}$ = Antígeno-Complejo de anticuerpo (Cantidad variable)
 $\text{Enz AgAb}_{(\text{BtN})}$ = Enzima-Antígeno (Cantidad Constante)
 K_a = Cambio constante de la Asociación
 K_a = Cambio constante de la disociación
 $K = K_a / K_s$ = Equilibrio constante

Simultáneamente, el complejo inmune es inmovilizado a través de la interacción con la estreptavidina que recubre el pozo. Los reactants no unidos (17-OHP y 17-OHP-HRP) son removidos al final del tiempo de incubación.

$\text{AgAb}_{(\text{BtN})} + \text{Enz AgAb}_{(\text{BtN})} + \text{Streptavidina}_{\text{CW}} \rightarrow \text{complejo inmovilizado (IC)}$

$\text{Streptavidina}_{\text{CW}}$ = Streptavidina inmovilizada en el pozo

Complejo inmovilizado (IC) = Ag-Ab unidos al pozo

El sustrato A se hace reaccionar a continuación con la enzima unida en la pared de los pozos. La reacción enzimática se termina con un ácido. El producto final se mide a 450 nm. El 17-OHP de la muestra desconocida se determina usando una curva de calibración generada con concentración conocida de 17-OHP

$\text{Enz AgAb}_{(\text{CW})} + \text{Sustrato} \rightarrow \text{Color (450nm)}$

$\text{Enz AgAb}_{(\text{IC})}$ = enzima inmovilizada unida al reactante

4.0 REACTIVOS

Material Suministrado:

A. N-17-OHP Calibradores/Controles – Manchas de sangre seca (Dos filas por 6 gotas – 2x6)

Seis (6) niveles de antígeno N17-OHP en manchas de sangre seca (ajustadas a 55% de hematocrito) en concentraciones **aproximadas** 0(A), 10 (B), 25(C), 50(D), 100(E) y 200(F) ng/ml puestas en papel filtro WHATMAN tipo 903. Almacenar de 2-8°C.

B. Controles N-17OHP - Manchas de sangre seca (Dos filas por 3 gotas – 2x3)

Tres niveles (3) de controles N-17OHP en manchas de sangre seca (ajustadas a 55% de hematocrito) con diferentes concentraciones puestas en papel filtro S&S tipo 903 en círculos C1, C2, y C3. Se les ha adicionado un preservante.

Nota 1: Los valores de calibradores y controles son específicos para cada lote. Los valores exactos aparecen impresos en la parte exterior del empaque de aluminio.

Nota 2: El lote específico de los calibradores, basados en sangre total humana, fueron verificados con las manchas de sangre suministradas por la CDC.

Nota 3: No use las gotas de sangre con apariencia de apelmazamiento, coagulación o humedad.

C. Reactivo Biotina N17-OHP– 13ml vial ▼

IgG policlonal Anti-17-OHP marcada con biotina en un buffer, teñida de verde y con preservante. Almacenar de 2-8°C.

D. Reactivo Enzimático N17-OHP– 7ml/vial (E)

Un (1) vial de conjugados de peroxidasa N-17-OHP-rábano picante (HRP) en una matriz proteínica estabilizante. Se les ha adicionado un preservante Almacenar de 2-8°C.

E. Placa recubierta de Estreptavidina– 96 wells - Icono ↓

Una microplaca de 96 pozos con streptavidina y empaçada en una bolsa de aluminio con un desecante. Almacenar de 2-8°C.

F. Solución de Lavado Concentrada – 20 ml - Icono ▲

Un (1) vial contiene un surfactante en buffer salino. Se les ha adicionado un preservante. Almacenar de 2-30°C.

G. Solución Sustrato – 14ml/vial - Icono S^C

Una (1) botella contiene 25ml de tetrametilbenzidina (TMB) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en buffer. Almacenar de 2-8°C.

H. Solución de Parada – 8ml/vial - Icono STOP

Una (1) botella contiene 13ml de un ácido fuerte (H₂SO₄ 0.5 M). Almacenar de 2-8°C.

C. Instrucciones del Producto

Nota 1: No use los reactivos después de la fecha de vencimiento.

Nota 2: Evite la exposición extendida al calor o a la luz. **Los reactivos abiertos son estables por 60 días almacenados de 2-8°C. La estabilidad del kit y los componentes está identificada en la etiqueta**

Nota 3: Los reactivos son suficientes para una microplaca de 96 pozos.

4.1 Material requerido no suministrado:

- Rotador con capacidad de 150rpm de rotación.
- Dispensador(es) para las distribuciones repetidas de 0.050 ml, 0.100 ml y 0.350ml con una precisión superior al 1.5%.
- Dispensadores de volumen ajustables (20-200 μ l) y (200-1000 μ l) para las diluciones del conjugado.
- Perforadora de 1/8" para el papel filtro.
- Pinzas para recoger los puntos perforados.
- Lavador de Microplaca o frasco lavador (opcional).
- Lector de microplaca capaz de leer absorbancias de 450nm y 620nm.
- Papel absorbente para secar los pozos de la microplaca.
- Cubierta plástica o cubierta de microplaca para los pasos de incubación.
- Aspirador al vacío (opcional) para los pasos de lavado.
11. Cronómetro.
12. Control de Calidad externo.

5.0 PRECAUCIONES

Para uso Diagnóstico in Vitro

No para el Uso Interno ni Externo en Humanos o Animales

Todos los productos que contienen suero humano se encontraron no reactivos para el Antígeno de Superficie de la Hepatitis B, VIH 1 y 2 y anticuerpos para VHC mediante pruebas aprobadas por la FDA. No se conoce prueba que pueda ofrecer seguridad de que los agentes infecciosos estén ausentes, todos los productos séricos de humanos deben ser manejados como potencialmente peligrosos y considerarse capaces de transmitir enfermedades. Las buenas prácticas de laboratorio para el manejo de productos sanguíneos pueden ser encontrados en el Centro de Control de Enfermedades/ Instituto Nacional de Salud, "Biosseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos", 2da Edición, 1988, HHS

La eliminación adecuada de los componentes del kit debe ser acorde con los requerimientos de regulación locales.

6.0 RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Siguiendo la guía de la NCCLS publicación LA4T (7) para el programa de recolección de muestras de sangre para tamizaje neonatal. Las copias se pueden obtener en: NCCLS, 771 E. Lancaster Ave, Villanova, PA 19085. Utilice Papel Filtro WHATMAN Tipo 903. Para el tamizaje de muestras para CAH, recolecte las muestras 3 a 5 días después del nacimiento. Utilice lancetas desechables con puntas menores de 2.5 mm para pinchar los lados medial o lateral de la parte inferior del talón. Permita que la gota de sangre forme una mancha con volumen suficiente de 5/8 pulgadas en el papel filtro. Toque suavemente la gota de sangre con el papel de filtro. NO PRESIONE CONTRA LA PIEL. NO TOQUE EL AREA MANCHADA. Suspenda los papeles manchados horizontales y dejar secar a temperatura ambiente durante un mínimo de 3 horas. Evite que los puntos toquen otras superficies y mantener alejado de la luz directa. Las muestras deben ser transportadas (13) al laboratorio dentro de 24 horas después de la recogida en el recipiente de almacenamiento adecuado. El laboratorio deberá almacenar las muestras a 2-8°C protegido de la humedad y la luz directa.

Las gotas de sangre son estables hasta por 3 semanas de 2-8°C protegidas de la luz y la humedad. Rechace las muestras con las siguientes condiciones:

- Muestras no recolectadas en papel WHATMAN Tipo 903.
- Manchas de sangre no saturadas por completo en ambos lados.
- Manchas de sangre con aparición de aglomeración o coagulación.
- Manchas de sangre con apariencia de humedad.

7.0 CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe procesar los controles a niveles de bajo, normal y alto para el monitoreo del rendimiento del análisis. Estos controles serán tratados como desconocidos y los valores determinados en cada procedimiento de prueba realizado. Las gráficas de control de calidad serán mantenidas para seguir el rendimiento de los reactivos suministrados. Los métodos estadísticos pertinentes serán empleados para hallar las tendencias. La desviación significativa del rendimiento establecido puede indicar cambio no notificado en las condiciones experimentales o degradación de los reactivos del kit. Deben

usarse reactivos frescos para determinar la razón de las variaciones.

8.0 PREPARACION DE REACTIVOS:

- Buffer de Lavado**
Diluir el contenido de la solución de lavado a 1000ml con agua destilada o desionizada recipiente de almacenamiento adecuado. El reactivo puede ser almacenado de 2-30°C por hasta 60 días.

Nota 1: No use el sustrato si se torna azul.

Nota 2: No use reactivos contaminados o con crecimiento de bacterias.

9.0 PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Antes de proceder con el análisis lleve todos los reactivos y muestras de pacientes a temperatura ambiente (20-27°C).

*****La prueba puede ser procesada por personal experto o por un profesional entrenado*****

- Montar el número necesario de micropocillos para cada calibrador, Control y muestra del paciente que ha de ensayarse por duplicado. **Retire las tiras no utilizadas en la bolsa de aluminio, sellado y almacenar de 2-8°C.**
- Perfore 1/8 " de los puntos de sangre para cada calibrador, control y muestras en los pocillos asignados. **(NOTA: No perforo puntos de sangre de las zonas que están impresas o que están cerca de la orilla de la mancha de sangre).**
- Adicione 0.100ml (100 μ l) de Reactivo Biotina N17-OHP a todos los pozos.
- Adicione 0.050ml (50 μ l) de Reactivo enzimático N17-OHP a todos los pozos.
- Agite la microplaca durante 20-30 segundos para mezclar. **(NOTA: Asegúrese de que todas las muestras de sangre estén totalmente sumergidas en el líquido y no están adheridas a las paredes del pozo).**
- Cubra la microplaca y rote por 120 minutos a temperatura ambiente usando el rotador a 150rpm.
- Descarte el contenido de la microplaca por decantación o aspiración. Si decanta, el contenido, seque la placa con un papel absorbente. **NOTA: Asegúrese de que todos los puntos de sangre se secan removidos en este punto. No deben quedar en los micropocillos.**
- Adicione 350 μ l de buffer de lavado (ver la sección de preparación de reactivos), decante (golpee y seque) o aspire. Repita cuatro (4) veces para un total de cinco (5) lavados. **Un lavador automático o manual de la placa puede ser utilizada. Siga las instrucciones del fabricante para el uso apropiado. Si se emplea un frasco lavador, llene cada pozo presionando el envase (evitando las burbujas de aire) para dispensar la lavada. Decantar el lavado y repetir cuatro (4) veces adicionales.**
- Adicione 100 μ l de solución sustrato (desarrollador de color) a cada pozo.
- Cubra la microplaca e incube por 15 minutos a temperatura ambiente.
- Adicione 0.050ml (50 μ l) de solución de parada a cada pozo y mezcle suavemente hasta obtener un color uniforme. **NOTA: Siempre adicione los reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias en el tiempo de reacción entre pozos.**
- Lea la absorbancia en cada pozo a 450nm (usando una longitud de onda de referencia de 620-630nm para minimizar las imperfecciones de los pozos) en un lector de microplaca. **Los resultados deben leerse dentro de los 15 minutos después de la adición de la solución de parada.**

Nota: los calibradores y controles suministrados en el kit deben ser ensayados por duplicado. Cada placa es limitada para 38 pacientes cuando son incluidos los calibradores y controles. En caso de que sean necesarias más de 38 muestras para la prueba al mismo tiempo, es aconsejable el análisis de 1 juego de calibrador y control en por placa y tomar la densidad óptica promedio de cada placa para el cálculo. El análisis no más de 3 placas a la vez. Esto significa que la carga máxima de la muestra del paciente es de 129 muestras

10.0 CALCULO DE RESULTADOS

Una curva de dosis respuesta es empleada para comprobar la concentración de N17-OHP en muestras desconocidas.

1. Registre la absorbancia obtenida en el lector de microplaca como se observa en el Ejemplo 1.
2. Trace la absorbancia para cada suero de referencia por duplicado versus la concentración N17-OHP correspondiente en ng / ml en el papel cuadrículado semi-log (promedie los duplicados de los sueros de referencia antes de trazar).
3. Trace la mejor curva de ajustes a través de los puntos de la gráfica.
4. Para determinar la concentración de N17-OHP para una muestra desconocida, localizar la absorbancia promedio de los duplicados para cada desconocido en el eje vertical de la gráfica, encontrar el punto de intersección en la curva, y lea la concentración (en ng / ml) desde el eje horizontal del gráfico (los duplicados del desconocido puede de calcularse como se indica). En el siguiente ejemplo, la absorbancia media (0.755) se cruza con la curva de respuesta a la dosis en (47.69ng/ml) concentración de N17-OHP.

Nota: El software reducción de datos de computadoras diseñadas para (ELISA) también puede ser utilizados para la reducción de datos. **Si tal software es utilizado, la variación del software debe ser comprobada.**

EJEMPLO 1

Muestra I.D.	Número del Pozo	Abs (A)	Media Abs (B)	Valor (ng/ml)
Cal A	A1	3.071	3.011	0.0
	B1	2.933		
Cal B	C1	2.321	2.217	10.0
	D1	2.072		
Cal C	E1	1.585	1.607	25.0
	F1	1.624		
Cal D	G1	1.123	1.067	50.0
	H1	0.993		
Cal E	A2	0.756	0.679	100.0
	B2	0.616		
Cal F	C2	0.396	0.410	200.0
	D2	0.423		
Control 1	E2	2.001	1.925	15.584
	F2	1.848		
Control 2	G2	0.760	0.755	81.720
	H2	0.750		
Patient	A3	1.104	1.123	47.69
	B3	1.141		

* Los datos presentados en el ejemplo 1 son para ilustración únicamente y **no deben** ser usados en lugar de la curva dosis respuesta que debe ser preparada con cada ensayo.

12.0 ANALISIS DE RIESGO

El MSDS y Análisis de Riesgo para este producto está disponible en Monobind Inc.

12.1 Desempeño de la prueba

1. Es importante que el tiempo de reacción en cada pozo sea mantenido en forma constante para obtener resultados reproducibles.
2. El pipeteo de las muestras no debe extenderse más de 10 minutos para evitar derivar el análisis.
3. Si más de 1 placa es usada, se recomienda repetir la curva de respuesta a la dosis.
4. La adición de la solución sustrato inicia una reacción cinética, la cual es terminada mediante la adición de la solución de parada. Por lo tanto el sustrato y solución de parada deben ser adicionados en la misma secuencia para eliminar cualquier derivación de tiempo durante la reacción.
5. Los lectores de placa realizan mediciones verticalmente. No tocar el fondo de los pozos.
6. La falla en la remoción adecuada de la solución adherida en los pasos de aspiración o decantación puede resultar en replicación baja y resultados incorrectos.
7. Usar los componentes del mismo lote, no mezclar los reactivos de diferentes lotes.
8. Se debe realizar un pipeteo exacto y preciso, así como seguir los requerimientos de tiempo y la temperatura. Cualquier desviación de las instrucciones de uso puede arrojar resultados inexactos.

9. Se deben seguir las buenas prácticas de laboratorio y todos los estándares nacionales aplicables, regulaciones y leyes de manera estricta para asegurar el cumplimiento y uso adecuado del dispositivo.
10. Es importante calibrar todos los equipos, por ejemplo: pipetas, lectores, lavadores y/o instrumentos automatizados con este reactivo y realizar un mantenimiento preventivo rutinario.
11. El análisis de riesgo – como lo requiere la directiva IVD 98/79/EC de la marca CE- para estos y otros dispositivos elaborados por Monobind, pueden ser solicitados vía Email: Monobind@monobind.com

12.2 Interpretación

1. Las mediciones e interpretación de los resultados deben ser procesadas por personal capacitado o profesionales entrenados.

2. Los resultados de laboratorio por si solos son únicamente un aspecto para determinar el cuidado del paciente y no deben ser la única base para una terapia, particularmente si los resultados están en conflicto con otros determinantes.
3. Para validar los resultados de las pruebas, los controles adecuados y otros parámetros deben estar entre los rangos establecidos y los requerimientos del análisis.
4. Si los kits de prueba están alterados, ya sea por mezcla de partes de diferente kits, lo cual puede producir resultados de prueba falsos o si los resultados son interpretados incorrectamente, **Monobind no tendrá responsabilidad.**
5. Si se utiliza el sistema de reducción de datos controlados por computador para interpretar los resultados del ensayo, es necesario que los valores de predicción para los calibradores se ubiquen dentro del 10% de las concentraciones asignadas.
6. Este ensayo ha sido diseñado exclusivamente para la detección de CAH en el recién nacido. No debe ser utilizado para las pruebas de confirmación, monitorear terapias o pruebas prenatales.
7. El examen de gotas de sangre N17-OHP detecta sólo CAH causada por deficiencia de 21-hidroxilasa que representa aproximadamente el 90% de la enfermedad (1). No detectará CAH causada por la deficiencia de otras enzimas, en particular deficiencias de 11- β -hidroxilasa.
8. Prematuros e infantes con bajo peso al nacer tienden a tener valores elevados de 17-OHP (6).
9. Muestras recolectadas en el segundo día de vida tienen a presentar niveles altos de 17-OHP debido al cruce con la placenta. (5).
10. Esta es una prueba de tamizaje, la muestras con valores elevados de 17-OHP deben ser confirmadas con un análisis de 17-OHP usando muestras de suero.

13.0 RANGOS DE VALORES ESPERADOS

RANGO REPORTABLE: Rango analítico = 5 - 200 ng/ml

Las muestras que caen dentro de la curva de calibración deben ser reportadas como tal. Las muestras que quedan fuera de la curva de calibración deben ser reportados como <5 ng/ml o >150 ng / ml. El límite de detección de la prueba es de 0,56 ng/ml. La siguiente es una guía de programas de tamizaje reportados en la literatura (2 y 10). Para los ensayos que cumplen con los criterios individuales de Q.C. de laboratorio, reportar resultados menores de 22 ng/ml. Solicite una segunda muestra para valores 22-35 ng / ml. Los valores superiores a 35 ng / ml deben ser confirmadas con un ensayo de 17-OHP usando muestras de suero. Puesto que los bebés prematuros tienen concentraciones de 17-OHP mucho más altas que los bebés normales a término, se sugiere un nivel de punto de corte de 80 pg/disco (11) o equivalencia en suero de 57 ng/ml (suponiendo que cada disco contiene 3 mm 1,4 μ l de suero). Ciento cuarenta y ocho muestras de sangre neonatales normales libres de tratamientos con esteroides obtenidos de un laboratorio de investigación de la salud pública se analizaron en este kit de 17-OHP. La media calculada para el ensayo es de 12.2ng/mL con el 69% de los valores comprendidos entre 5-15 ng / ml.

14.0 CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO

14.1 Precisión

La precisión de los inter e intra ensayos de la N17-OHP Accubind® ELISA Test System fue determinada por análisis en tres niveles diferentes de controles de sangre seca. El número (N), los valores de la media (X), desviación estándar (σ) y el

coeficiente de variación (C.V.) para cada uno de estos controles se presentan en la Tabla 1 y 2.

TABLA 1

Precisión Intra ensayos (Valores en ng/ml)

Muestra	N	X	σ	C.V.
Bajo	14	22.7	1.84	7.1%
Medio	14	55.8	5.40	9.7%
Alto	14	114.8	7.08	6.2%

TABLA 2

Precisión Inter ensayos (Valores en ng/ml)

Muestra	N	X	σ	C.V.
Bajo	18	22.5	2.11	9.4%
Medio	18	57.6	6.01	10.5%
Alto	18	118.1	15.00	12.7%

* Según la medición por duplicado en un período de seis meses.

14.2 Sensibilidad

La N17-OHP Accubind® ELISA Test System tiene una sensibilidad de 0.56 ng/ml. La sensibilidad fue determinada mediante la medición de variabilidad del calibrador 0 ng/ml y usando 2 σ (95% certeza) estadística para calcular la dosis mínima.

14.3 Exactitud

La N17-OHP Accubind® ELISA Test System fue comparada con un método alternativo de 17-OHP. Se usaron muestras de sangre seca con concentraciones de 5-80 ng/ml. El total de muestras fue de 150. La ecuación de regresión de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación se calcularon para este 17-OHP Accubind® ELISA en comparación con el método de referencia. Los datos obtenidos se muestran en la Tabla 3.

TABLA 3

Método	Regresión de Mínimos cuadrados	Coefficiente de Correlación
Este método (y)	$y = 0.920 + 0.890(x)$	0.970
Referencia (x)		

Solamente se observaron pequeños sesgos entre este método y el método de referencia y se indican proximidad de los valores. La ecuación de regresión de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación indican una buena concordancia método.

14.4 Especificidad

El antisuero usado en el ensayo es altamente específico para la detección de 17 α -hidroxiprogesterona. Los siguientes esteroides de origen natural fueron adicionados en un pool de sangre entera humana con un hematocrito ajustado a 55% de diferentes concentraciones. La preparación se realizó en papel filtro WHATMAN Tipo 903, se secó y se analizó. El porcentaje indicado es la reactividad cruzada al 50% de intercepción.

Componente	Concentración en ng/mL	%React. Cruzada
11-desoxicortisol	78 -20,000	5.2
Progesterona	78 -20,000	4.6
17 α -hidroxipregnenolona	78 -20,000	3.7
17 α -hidroxipregnenolona sulfato	600 -10,000	1.4
Pregnenolona sulfato	78 -20,000	<0.1
Desoxicorticosterona	20,000	<0.1
Aldosterona	20,000	<0.1
Colesterol	20,000	<0.1
Corticosterona	20,000	<0.1
Cortisol	20,000	<0.1
Dehidroepiandrosterona	20,000	<0.1
Dihydrotestosterona	20,000	<0.1
17 α -estradiol	20,000	<0.1
17 β -estradiol	20,000	<0.1
Estrilol	20,000	<0.1
Estrona	20,000	<0.1
Testosterona	20,000	<0.1

14.5 Estudio de dilución

Los estándares de N17-OHP fueron adicionados a 3 muestras de sangre total. Estas muestras se diluyeron en serie con la sangre total. Las muestras diluidas fueron dispuestas en papel filtro Whatman Tipo 903, secadas y analizadas.

I.D	Enco ntrad o	1:2 Dil	1:4 Dil	1:8 Dil
A	53.5	26.7 (99.8%)	15.5(115.9%)	7.5(112.1%)
B	56.0	28.5(101.8%)	13.4(95.7%)	8.5(121.4%)
C	22.9	13(113.5%)	6.4(111.8%)	2.7(94.3%)

14.6 Recuperación

Los estándares de N17-OHP fueron adicionados en 2 muestras de sangre entera a 3 concentraciones. Las muestras fueron dispuestas en papel filtro Whatman#903, secadas y analizadas.

I.D.	Recuperación	%Recuperación	Promedio	
#1+10	9.58	95.8%	96.9%	
#1+25	24.3	97.1%		
#1+50	48.9	97.8%	97.0%	
I.D.	Recuperación	%Recuperación		Promedio
#2+25	24.7	98.6%		
#2+50	43.6	87.3%		
#2+80	84.0	105.1%		

15.0 REFERENCIAS

1. Maria New and Lenore Levine, "Steroid 21-hydroxylase deficiency", *Pediatric and Adolescent Endocrinology*, **13**: 1-46 (1984).
2. Songya Pang et al, "A pilot newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in Alaska", *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **55**:413-420, (1982).
3. Hirschfeld AJ and Fleshman JK, "A usually high incidence of salt-losing congenital adrenal hyperplasia in the Alaskan Eskimo", *J Pediatrics*, **75**:492 (1969).
4. New MI, DuPont B, Pang S, et al, "An update on congenital adrenal hyperplasia", *Recent progress in Hormone Research*, **37**:105 (1981).
5. Hughes I A, et al, "Plasma 17 α -OH Progesterone concentrations in newborn infants", *Arch. Dis. Child* **54**:347-349 (1979).
6. God' o B. et al, "Plasma 17 α -OH Progesterone in full term and pre-term infants at birth and during the early neonatal period", *Hormone Research*, **15**:65-71 (1981).
7. National Committee for Clinical Laboratory Studies: Blood collection on filter paper for neonatal screening programs. Approved standard. NCCLS publication IA4-A Villanova, PA: NCCLS: 1988.
8. DPC Package Insert. I 066, July 12, 1991 .
9. Westgard JO, et al, "A multi-rule chart for Quality Control", *Clin Chem* **27**:493-501 (1981).
10. Hofman, et al, " Direct Solid-Phase Radioimmunoassay for screening 17 α -OH Progesterone in whole blood samples from newborns", *Clin Chem*, **31**:1127-1130 (1985).
11. Berry J, Betts P, and Wood PJ, "The interpretation of bloodspot 17 α -hydroxypregesterone levels in term and pre-term neonate", *Annals of Clinical Biochemistry*, **23**:546-51 (1985).
12. Zachmann M, et al, "Clinical and biochemical variability of congenital adrenal hyperplasia due to 11 β -hydroxylase deficiency; a study of 25 patients", *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **56**:222-229, (1983).
13. "Guidelines for the Shipment of Dried Blood Spot Specimens", *Safety & Health Monograph - May 1993*, U.S. Department of Health and Human Services.

Revision: 4 Date: 10-07-2013 DCO: 0887
Cat #: 5525-300

For Orders and Inquiries, please contact

Monobind Inc.
100 North Pointe Drive
Lake Forest, CA 92630 USA

Tel: +1 949.951.2665 Email: info@monobind.com
Fax: +1 949.951.3539 Web: www.monobind.com

Please visit our website to learn more about our other interesting products and services.



CEpartner4U, Esdoornlaan 13,
3951DB Maarn, The Netherlands
www.cepartner4u.eu

	Plate Format	1 Plate	2 Plate	5 Plate	10 Plate	20 Plate
	Item	96 Test	192 Test	480 Test	960 Test	1920 Test
A	Calibrators	1 Set	1 Set	2 Sets	4 Sets	8 Sets
B	Controls	1 Set	1 Set	2 Sets	4 Sets	8 Sets
C	N17HOP Enzyme Reagent	1 x 7 ml	2 x 7 ml	1x 30 ml	2 x 30 ml	4 x 30 ml
D	N17HOP Biotin Reagent	1 x 13 ml	2 x 13 ml	1x 52 ml	2 x 52 ml	4 x 52 ml
E	Plates	1	2	5	10	20
F	Wash Solution	1 x 20 ml	1 x 20 ml	1 x 60 ml	2 x 60 ml	4 x 60 ml
G	Mono Substrate Solution S ^C	1 x 14ml	2 x 14 ml	1 x 52 ml	2 x 52 ml	4 x 52 ml
H	Stop Solution	1 x 8 ml	1 x 8 ml	1 x 30 ml	2 x 30 ml	4 x 30 ml