

# ELISA de inhibina B



## AL-107-i

### USO INDICADO

El kit de inmunoensayo de adsorción (ELISA) de inhibina B ofrece materiales para determinar cuantitativamente la inhibina B en suero y otros líquidos biológicos de origen humano. Este ensayo es apto para uso diagnóstico *in vitro*.

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La inhibina B es una hormona dimerica compuesta de subunidades alfa ( $\alpha$ ) y beta B ( $\beta_B$ ). Las subunidades  $\alpha$  libres no suelen tener ningún efecto fisiológico. Por lo tanto, la bioactividad de las inhibinas depende de la formación de estructuras dimericas  $\alpha$ - $\beta$  (que son las únicas en presentar actividad biológica). Las inhibinas son hormonas proteicas segregadas por las células granulosa del ovario en la mujer y las células de Sertoli de los testículos en el hombre; inhiben selectivamente la secreción de la hormona foliculoestimulante (FSH) en la hipófisis, y también cumplen funciones paracrina locales en las gónadas. Se han detectado niveles de inhibina B en la función de las células de Sertoli (posible marcador de espermatogénesis y capacidad funcional de los testículos), la reserva ovárica y tumores de células granulosa.

### PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El ELISA de inhibina B es un inmunoensayo cuantitativo de tipo sándwich en tres pasos. En el primer paso, se añaden calibradores, controles y muestras desconocidas a pocillos de microvaloración recubiertos de anticuerpos antiinhibina B y se incuban. Después de la incubación y el lavado inicial, los pocillos se incuban con anticuerpo antiinhibina B biotinilado. Tras la segunda incubación y lavado, los pocillos se incuban con conjugado estreptavidina-peroxidasa de rábano picante (EPRP). Después del tercer paso de incubación y lavado, los pocillos se incuban con solución de sustrato (TMB) y luego se añade una solución de parada ácida. En principio, el conjugado anticuerpo-biotina se une al complejo anticuerpo-antígeno en fase sólida, el cual, a su vez, se une al conjugado estreptavidina-enzima. El complejo anticuerpo-antígeno-conjugado biotina-EPRP unido al pocillo es detectado por la reacción enzima-sustrato. El grado de recambio enzimático del sustrato se determina midiendo la absorbancia en dos longitudes de onda: a 450 nm como filtro de prueba principal y a 630 nm como filtro de referencia. La absorbancia medida es directamente proporcional a la concentración de inhibina B en las muestras y los calibradores.

### MATERIALES PROPORCIONADOS

#### CAL-107A - CAL-107F Calibradores A a F de inhibina B (liofilizados)

Seis viales etiquetados «A» a «F» que contienen concentraciones aproximadas de 0-1200 pg/ml de inhibina B en sueros animales y un conservante sin mercurio. **La tarjeta de calibración indica las concentraciones exactas.** Conservar sin abrir a temperaturas entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad. Reconstituir los calibradores A-F con 1 ml de agua desionizada; solubilizarlos, mezclarlos bien y utilizarlos después de reconstituirlos. Tomar alícuotas y congelarlas a -20 °C o menos por hasta 1 año. Evitar ciclos repetidos de congelación-descongelación. Si se almacena entre 2 y 8 °C, desecharlo al cabo de 5 días.

#### CTR-107-I y CTR-107-II Controles I y II de inhibina B (lío-filizados)

Dos viales etiquetados «Level I» (Nivel I) y «Level II» (Nivel II) que contienen, respectivamente, una concentración baja o alta de inhibina B en sueros animales y un conservante sin mercurio. **La tarjeta de calibración indica los intervalos exactos de los controles.** Conservar sin abrir a temperaturas entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad. Reconstituir los controles de nivel I y II con 1 ml de agua desionizada; solubilizarlos, mezclarlos bien y utilizarlos después de reconstituirlos. Tomar alícuotas y congelarlas a -20 °C o menos por hasta 1 año. Evitar ciclos repetidos de congelación-descongelación. Si se almacena entre 2 y 8 °C, desecharlo al cabo de 5 días.

#### PLT-107 Tiras de microvaloración recubiertas de inhibina B

Un soporte que contiene 12 tiras y 96 pocillos de microvaloración con anticuerpo antiinhibina B inmovilizado en la pared interna de cada pocillo. Conservar a temperaturas entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad en la bolsa con cierre, junto con un desecante como protección contra la humedad.

#### ASB-207A Amortiguador de ensayo A de inhibina B

Un frasco de 8 ml que contiene amortiguador proteico (seroalbúmina bovina) con un conservante sin mercurio. Conservar a temperaturas entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad.

#### ASB-207B Amortiguador de ensayo B de inhibina B

Un frasco de 8 ml que contiene solución de amortiguador con un conservante sin mercurio. Conservar a temperaturas entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad.

#### BCC-107 Concentrado para conjugado inhibina B-biotina

Un vial de 0,4 ml que contiene anticuerpo de detección-biotina en un amortiguador proteico con un conservante sin mercurio. Antes del uso, diluir en diluyente para conjugado de inhibina B. Conservar a temperaturas entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad.

#### CND-207 Diluyente para conjugado inhibina B-biotina

Un frasco de 12 ml que contiene un amortiguador proteico con un conservante sin mercurio. Conservar a temperaturas entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad.

#### SAR-107 Conjugado inhibina B-estreptavidina-enzima, listo para usar (LPU)

Un frasco de 12 ml que contiene estreptavidina-peroxidasa de rábano picante (PRP) en un amortiguador proteico y un conservante sin mercurio. Conservar sin diluir a temperaturas entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad.

#### TMB-100 Solución de cromógeno TMB

Un frasco de 12 ml que contiene una solución de tetrametilbencidina (TMB) en amortiguador con agua oxigenada. Conservar a temperaturas entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad.

#### STP-100 Solución de parada

Un frasco de 12 ml que contiene ácido sulfúrico 0,2 M. Conservar a temperaturas entre 2 y 30 °C hasta la fecha de caducidad.

#### WSH-100 Concentrado para lavado A

Un frasco de 60 ml que contiene solución salina amortiguada de fosfato y un detergente no iónico. Conservar a temperaturas entre 2 y 30 °C hasta la fecha de caducidad. Diluir 25 veces con agua desionizada antes del uso.

### MATERIALES NECESARIOS QUE NO SE SUMINISTRAN

1. Lector de microplacas capaz de medir absorbancias a 450, 405 y 630 nm.
2. Agitador orbital de microplacas.
3. Lavadora de microplacas.
4. Pipeta de precisión semiautomatizada/manual capaz de administrar 10-250  $\mu$ l.
5. Vórtex.
6. Agua desionizada.
7. Tubos de cultivos desechables de 12 x 75 mm.
8. Gradillas ajustadas para tubos de 12 x 75 mm.

### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

#### Para uso diagnóstico *in vitro*.

Deberán observarse las siguientes precauciones:

- a) Observar las buenas prácticas de laboratorio.
- b) Utilizar equipo de protección individual. Llevar batas de laboratorio y guantes desechables al manipular materiales de inmunoensayo.

- c) Manipular y desechar todos los reactivos y materiales en conformidad con las reglamentaciones aplicables.

#### ADVERTENCIA: Materiales potencialmente biopeligrosos

Este reactivo podría contener material de origen humano (p. ej., suero) o sustancias utilizadas junto con dichos materiales. Manipular todos los reactivos y las muestras de paciente observando precauciones de bioseguridad de nivel 2, tal como se recomienda para cualquier material humano potencialmente infeccioso en el manual "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 5.ª edición, 2007<sup>1</sup> de los Centros para el Control de Enfermedades/Institutos Nacionales de la Salud.

#### ADVERTENCIA: Posible peligro químico

Algunos reactivos de este kit contienen Pro-Clean 400 y azida sódica<sup>2</sup> como conservantes. En altas concentraciones, Pro-Clean 400 y la azida sódica son irritantes de la piel y las membranas mucosas.

La ficha de datos de seguridad de los materiales (disponible en AnshLabs.com o a petición) contiene más información sobre las sustancias peligrosas contenidas en el kit.

### TOMA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

- El tipo de muestra recomendada es suero.
- Los requisitos de manipulación, procesamiento y conservación dependen de la marca del tubo colector de sangre que se utilice. Consultar las instrucciones del fabricante para mayor orientación. Cada laboratorio deberá determinar la aceptabilidad de sus propios tubos colectores de sangre y productos de separación del suero.
- Las muestras podrán conservarse a 4 °C si se van a analizar en el plazo de 24 horas; en caso contrario, las muestras deberán conservarse a -20 o -80 °C para evitar la contaminación y la pérdida de bioactividad.
- No deben analizarse muestras lipémicas, hemolizadas o ictericas.
- Evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación de las muestras. No se deberán descongelar las muestras más de 3 veces.
- Para el envío, las muestras deberán colocarse en envases herméticos dentro de bolsas para muestras biopeligrosas, con la correspondiente identificación de estas e información de requisición de las pruebas en el bolsillo exterior de cada bolsa. Al enviar las muestras deben seguirse los requisitos del DOT y la IATA.

### NOTAS DEL PROCEDIMIENTO

- Es necesario entender a cabalidad este prospecto para aprovechar eficazmente el ensayo ELISA de inhibina B. El usuario se responsabilizará de validar el ensayo para sus propios fines. Solo podrán obtenerse resultados exactos si se aplican técnicas de laboratorio precisas y se siguen las instrucciones del prospecto.
- Con cada ensayo deberá incluirse una curva de calibración.
- Dejar que todos los reactivos del kit se equilibren a temperatura ambiente (23 ± 2 °C) antes de utilizarlos. Mezclar a fondo los reactivos por inversión suave antes de utilizarlos. No mezclar lotes diversos de ningún componente de kits ni utilizar ningún componente después de su fecha de caducidad.
- Utilizar una punta de pipeta desechable limpia para cada reactivo, calibrador, control o muestra. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos y la contaminación de las soluciones de sustratos con conjugados de PRP. La enzima utilizada según la etiqueta se inactiva en presencia de oxígeno y es sumamente sensible a la contaminación microbiana, la azida sódica, el ácido hipocloroso y los clorohidrocarburos aromáticos que suelen hallarse en los sistemas de abastecimiento de agua de los laboratorios. Utilizar agua desionizada.
- El lavado incompleto afectará adversamente el resultado y la precisión del ensayo. Para minimizar la posible desviación del ensayo a causa de variaciones en el tiempo de incubación de los sustratos, deben tomarse precauciones para añadir la solución de sustrato dentro de los pocillos. Durante el almacenamiento y la incubación, evitar la exposición de los reactivos al exceso de calor o la luz solar directa.

### PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

- Calibradores A-F y controles I y II de inhibina B:** Golpetear y reconstituir cada calibrador A-F y control I y II de inhibina B con 1 ml de agua desionizada; solubilizarlos, mezclarlos bien y utilizarlos después de reconstituirlos.
- Solución de lavado:** Diluir el concentrado para lavado 25 veces con agua desionizada. La solución de lavado es estable durante 1 mes a temperatura ambiente (23 ± 2 °C) si se la conserva en un frasco cerrado herméticamente.
- Pocillos de microvaloración:** Seleccionar la cantidad de pocillos recubiertos necesarios para el ensayo. Los pocillos sin utilizar que queden deberán colocarse en la bolsa con cierre junto con un desecante; la bolsa debe cerrarse para proteger su contenido contra la humedad.
- Solución de conjugado anticuerpo antiinhibina B-biotina:** El concentrado de conjugado anticuerpo antiinhibina B-biotina debe diluirse a razón de 1 parte de conjugado a 50 partes de diluyente para conjugado de inhibina B, en función de la

cantidad de pocillos utilizados. Si se va a utilizar una placa completa, pipetear exactamente 220 µl del concentrado en 11 ml del diluyente.

### PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Dejar que todas las muestras y reactivos alcancen la temperatura ambiente (23 ± 2 °C) y mezclarlos a fondo por inversión suave antes de utilizarlos. Los calibradores, los controles y las muestras desconocidas deben analizarse por duplicado.

NOTA: Todas las muestras de suero que produzcan resultados superiores a los del calibrador más alto deberán mezclarse y diluirse con el calibrador A de 0 pg/ml reconstituido.

- Reconstituir cada uno de los calibradores A-F y controles I y II de inhibina B con 1 ml de agua desionizada. Solubilizar durante 10 minutos y mezclar a fondo.
- Etiquetar las tiras de microvaloración a utilizar.
- Pipetear 50 µl del calibrador, los controles y las muestras desconocidas y añadirlos a los correspondientes pocillos.
- Con una pipeta de repetición, añadir a cada pocillo 50 µl del amortiguador de ensayo A de inhibina B.
- Con una pipeta de repetición, añadir a cada pocillo 50 µl del amortiguador de ensayo B de inhibina B.

NOTA: Las muestras que estén hemolizadas o contengan catalasas son propensas a formar espuma (que no afecta los resultados de las muestras). Si hay muestras de este tipo, incubarlas durante 30 minutos (sin agitar) a temperatura ambiente (23 ± 2 °C) para que se reduzca la espuma.

- Incubar la placa agitándola a alta velocidad (600-800 rpm) en un agitador orbital de microplacas durante 2 horas a temperatura ambiente (23 ± 2 °C).
- Durante los últimos 20-30 minutos de incubación, preparar la solución de conjugado anticuerpo antiinhibina B-biotina; para esto, diluir el concentrado para conjugado de inhibina B-biotina en diluyente para conjugado de inhibina B, según se describe en la sección Preparación de los reactivos de este prospecto adjunto.
- Aspirar y lavar cada tira 5 veces con solución de lavado (350 µl/pocillo) en una lavadora automática de microplacas.
- Con una pipeta de repetición, añadir a cada pocillo 100 µl de la solución de conjugado anticuerpo-biotina.
- Incubar la placa agitándola a alta velocidad (600-800 rpm) en un agitador orbital de microplacas durante 1 hora a temperatura ambiente (23 ± 2 °C).
- Aspirar y lavar cada tira 5 veces con solución de lavado (350 µl/pocillo) en una lavadora automática de microplacas.
- Con una pipeta de repetición, añadir a cada pocillo 100 µl del conjugado estreptavidina-enzima LPU.
- Incubar la placa agitándola a alta velocidad (600-800 rpm) en un agitador orbital de microplacas durante 30 minutos a temperatura ambiente (23 ± 2 °C).
- Aspirar y lavar cada tira 5 veces con solución de lavado (350 µl/pocillo) en una lavadora automática de microplacas.
- Con una pipeta de repetición, añadir a cada pocillo 100 µl de la solución de cromógeno de TMB. Evitar la exposición a la luz solar directa.
- Incubar los pocillos agitándolos a 600-800 rpm en un agitador orbital de microplacas durante 8-12 minutos a temperatura ambiente (23 ± 2 °C).
- NOTA: Para optimizar el tiempo de incubación, monitorizar visualmente el desarrollo de color.
- Con una pipeta de repetición, añadir a cada pocillo 100 µl de la solución de parada. Leer la absorbancia de la solución en los pocillos dentro de 20 minutos con un lector de microplacas puesto a 450 nm.
- NOTA: El calibrador cero debe programarse como "blanco" al leer la densidad óptica. Si el instrumento tiene una corrección de longitud de onda, ajustarlo para medir dos longitudes de onda: a 450 nm con corrección de fondo a 630 nm.

### RESULTADOS

NOTA: Los resultados mencionados en este prospecto se calcularon graficando los datos logarítmicos de densidad óptica (OD) en el eje «y» y la concentración logarítmica de la inhibina B en el eje «x» utilizando un ajuste de curva de regresión cúbica. Como alternativa, puede utilizarse un ajuste de curva de regresión cuadrática logarítmica en dos ejes. Otros métodos de reducción de datos podrían producir resultados ligeramente diferentes.

- Podrán obtenerse resultados óptimos con temperaturas de incubación de 23 ± 2 °C.
- Calcular la DO media para cada calibrador, control o muestra desconocida.
- Graficar el logaritmo de los valores medios de la DO de cada calibrador en el eje «y» y el logaritmo de las concentraciones de inhibina B (en pg/ml) en el eje «x», utilizando un ajuste de curva de regresión cúbica.

- Determinar las concentraciones de inhibina B de los controles y las muestras desconocidas a partir de la curva de calibración, haciendo corresponder sus valores medios de DO con las respectivas concentraciones de inhibina B.
- Cualquier muestra que produzca un valor superior al del calibrador más alto deberá diluirse según corresponda con el calibrador A de 0 pg/ml y volver a analizarse.
- Cualquier muestra que produzca un valor inferior a la sensibilidad analítica deberá notificarse como tal.
- Si es necesario, multiplicar el valor por un factor de dilución.

#### LIMITACIONES

Los reactivos que se suministran en este kit están optimizados para determinar concentraciones de inhibina B en muestras humanas de suero y plasma con heparina de litio. Si hay indicios de contaminación microbiana o excesiva turbidez en un reactivo, desechar el vial. Para ensayos en que se empleen anticuerpos, existe la posibilidad de que surjan interferencias por anticuerpos heterófilos en las muestras<sup>4</sup>.

#### CONTROL DE CALIDAD

- Cada laboratorio deberá establecer sus propios valores medios e intervalos aceptables para garantizar el rendimiento correcto.
- Los controles del ELISA de inhibina B u otros controles comerciales deberán producir valores dentro de los límites de confianza establecidos.
- Los límites de confianza de los controles de inhibina B están impresos en la **tarjeta de calibración**.
- Con cada ensayo deberá incluirse una curva de calibración completa (controles de nivel bajo y alto).
- La TMB debe ser incolora. La aparición de cualquier color podría indicar que hay contaminación o inestabilidad de los reactivos.

#### DATOS REPRESENTATIVOS DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

| Número de pocillo | Contenido del pocillo | DO media        | Concentración (pg/ml) |
|-------------------|-----------------------|-----------------|-----------------------|
|                   | <b>Calibradores</b>   | <b>(blanco)</b> |                       |
| <b>A1, A2</b>     | A                     | 0,04            | 0                     |
| <b>B1, B2</b>     | B                     | 0,085           | 12,7                  |
| <b>C1, C2</b>     | C                     | 0,176           | 34                    |
| <b>D1, D2</b>     | D                     | 0,527           | 129                   |
| <b>E1, E2</b>     | E                     | 1,595           | 446                   |
| <b>F1, F2</b>     | F                     | 3,432           | 1390                  |

**CAUIDADO:** No deberán emplearse los datos anteriores como sustituto de los datos obtenidos por el usuario en el laboratorio.

#### CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS

##### Límite de detección (LD):

El límite de detección del ensayo según el cálculo por interpolación de la media más dos desviaciones estándares de 24 réplicas de calibrador A (0 pg/ml) y calibrador B (12,7 pg/ml) es de 1,6 pg/ml.

##### Límite de cuantificación (LC):

La dosis mínima estimada de inhibina B lograda con una imprecisión total de 20% es de 4,6 pg/ml. El valor se determinó procesando 7 muestras en el intervalo de entre 2,95 y 364,12 pg/ml a lo largo de 7 series por cuadruplicado (n = 28).

##### Imprecisión:

Se determinó la reproducibilidad del ensayo de inhibina B en un estudio con dos mezclas de sueros y dos kits de controles. El estudio incluyó un total de 20 ensayos: 4 réplicas de cada ensayo (n = 78-80). En la tabla siguiente se presentan los datos representativos calculados a partir de las pautas EP5-A del NCCLS.

| Muestra           | Concentración media (pg/ml) | Intraserial |       | Interserial |       | Total  |       |
|-------------------|-----------------------------|-------------|-------|-------------|-------|--------|-------|
|                   |                             | DE          | % CV  | DE          | % CV  | DE     | % CV  |
| <b>Mezcla 1</b>   | 68,898                      | 2,680       | 3,89  | 4,353       | 6,32% | 5,112  | 7,42% |
| <b>Control I</b>  | 99,388                      | 4,352       | 4,38% | 3,422       | 3,44% | 5,536  | 5,57% |
| <b>Mezcla 2</b>   | 121,576                     | 4,899       | 4,03% | 5,143       | 4,23% | 7,103  | 5,84% |
| <b>Control II</b> | 308,103                     | 12,322      | 4,00% | 9,394       | 3,05% | 15,495 | 5,03% |

##### Recuperación:

Se añadieron cantidades conocidas de inhibina B a 4 muestras de suero que contenían distintas concentraciones de inhibina B endógena. Se determinó la concentración de inhibina B antes y después de la adición de inhibina B exógena, y se calculó el porcentaje de recuperación.

| Muestra | Concentración endógena (pg/ml) | Concentración prevista (pg/ml) | Concentración observada (pg/ml) | % de recuperación |
|---------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------------------|
| 1       | 50,86                          | 112,44                         | 106,53                          | 95                |
|         |                                | 168,42                         | 151,23                          | 90                |
|         |                                | 219,530                        | 209,90                          | 96                |
| 2       | 66,97                          | 127,78                         | 127,75                          | 100               |
|         |                                | 183,06                         | 180,78                          | 99                |
|         |                                | 233,54                         | 239,06                          | 102               |
| 3       | 144,88                         | 201,98                         | 190,5                           | 94                |
|         |                                | 253,89                         | 235,8                           | 93                |
|         |                                | 301,29                         | 301,8                           | 100               |
| 4       | 159,89                         | 216,28                         | 213,28                          | 99                |
|         |                                | 267,54                         | 252,14                          | 94                |
|         |                                | 314,34                         | 307,33                          | 98                |

##### Linealidad:

A partir del documento EP-6-P del NCCLS se realizaron múltiples diluciones con calibrador A de las 3 muestras de suero que contenían diversas concentraciones de inhibina B. En la tabla siguiente se representa el porcentaje de recuperación en muestras individuales.

| Muestra | Factor de dilución | Concentración prevista (pg/ml) | Concentración observada (pg/ml) | % Recuperación |
|---------|--------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------|
| 1       | Sin diluir         | 1318,4                         | No corresponde                  | No corresponde |
|         | 1:2                | 659,2                          | 674,6                           | 102            |
|         | 1:4                | 329,6                          | 310,8                           | 94             |
|         | 1:8                | 164,8                          | 173,3                           | 105            |
|         | 1:16               | 82,4                           | 84,5                            | 103            |
|         | 1:32               | 41,2                           | 47,1                            | 114            |
| 2       | Sin diluir         | 319,8                          | No corresponde                  | No corresponde |
|         | 1:2                | 159,9                          | 174,0                           | 109            |
|         | 1:4                | 79,9                           | 91,9                            | 115            |
|         | 1:8                | 40,0                           | 47,8                            | 120            |
|         | 1:16               | 20,0                           | 19,3                            | 97             |
|         | 1:32               | 10,0                           | 8,9                             | 89             |
| 3       | Sin diluir         | 224,960                        | No corresponde                  | No corresponde |
|         | 1:2                | 112,480                        | 122,580                         | 109            |
|         | 1:4                | 56,240                         | 60,080                          | 107            |
|         | 1:8                | 28,120                         | 30,970                          | 110            |
|         | 1:16               | 14,060                         | 12,110                          | 86             |

##### Especificidad analítica:

Este par de anticuerpos monoclonales empleado en el ensayo detecta la inhibina B. Otras moléculas relacionadas no presentaron ninguna reactividad cruzada importante a las concentraciones indicadas en la tabla siguiente. No se ha determinado la especificidad hacia otras especies.

| Muestra | Reactante cruzado | Concentración | % de reactividad cruzada |
|---------|-------------------|---------------|--------------------------|
| 1       | Inhibina A        | 100 ng/ml     | ND                       |
| 2       | Activina A        | 50 ng/ml      | ND                       |
| 3       | Activina B        | 50 ng/ml      | 0,04%                    |
| 4       | Activina AB       | 50 ng/ml      | ND                       |
| 5       | AMH               | 50 ng/ml      | ND                       |

##### Interferencia:

Cuando a la muestra de control se le añadió biotina, hemoglobina y triglicéridos en niveles de al menos el doble de su concentración fisiológica, las concentraciones de inhibina B estuvieron dentro de  $\pm 10\%$  del control, tal como se ilustra en la tabla siguiente. Este estudio se basó en el documento EP7-P del NCCLS.

| Interferentes | Concentración del analito | Valor de la muestra sin enriquecer (pg/ml) | Valor de la muestra enriquecida (pg/ml) | % de diferencia |
|---------------|---------------------------|--|---|-----------------|
| Biotina       | 1200 ng/ml                | 245,0                                      | 259,5                                   | 5,9             |
|               |                           | 148,6                                      | 153,6                                   | 3,3             |
| Hemoglobina   | 1,35 mg/ml                | 133,99                                     | 124,83                                  | -6,8            |
|               |                           | 31,83                                      | 30,01                                   | -5,7            |
| Triglicéridos | 5,0 mg/ml                 | 133,99                                     | 141,57                                  | 5,7             |
|               |                           | 31,83                                      | 32,48                                   | 2,0             |

**Valor previsto:**

Se calcularon con Analyse-It® para Microsoft Excel los intervalos previstos para la inhibina B, utilizando estimaciones no paramétricas del 95% y del 97,5% (respectivamente) con muestras procedentes de personas de sexo masculino o femenino.

| Sexo masculino      |                 |                                     |  |
|---------------------|-----------------|-------------------------------------|--|
| Intervalo de edades | N.º de muestras | Mediana de la concentración (pg/ml) | Intervalo de confianza del 95% (pg/ml) |
| <1 mes              | 24              | 159,0                               | 133,0 a 196,0                          |
| 1 mes - <1 año      | 36              | 225,0                               | 195,0 a 256,0                          |
| 1 - <10 años        | 29              | 100,0                               | 91,0 a 163,0                           |
| 10 - <20 años       | 57              | 184,0                               | 169,0 a 216,0                          |
| 20 - <40 años       | 216             | 162,0                               | 151,7 a 173,9                          |
| 40 - <60 años       | 215             | 145,1                               | 134,7 a 150,5                          |
| >60 años            | 139             | 140,2                               | 126,5 a 151,0                          |

| Sexo femenino       |                 |                                       |  |
|---------------------|-----------------|---------------------------------------|--|
| Intervalo de edades | N.º de muestras | Mediana de la concentración n (pg/ml) | Intervalo de confianza del 97,5% (pg/ml) |
| <1 mes              | 17              | 15,0                                  | 9,0 a 31,0                               |
| 1 mes - <1 año      | 19              | 51,0                                  | 23,0 a 94,0                              |
| 1 - <10 años        | 20              | 16,0                                  | 8,0 a 37,0                               |
| 10 - <20 años       | 21              | 38,0                                  | 22,0 a 85,0                              |
| 20 - <40 años       | 64              | 33,0                                  | 21,0 a 53,0                              |
| 40 - <60 años       | 44              | 20,4                                  | <5 a 33,0                                |
| >60 años            | 60              | ND                                    | ND                                       |

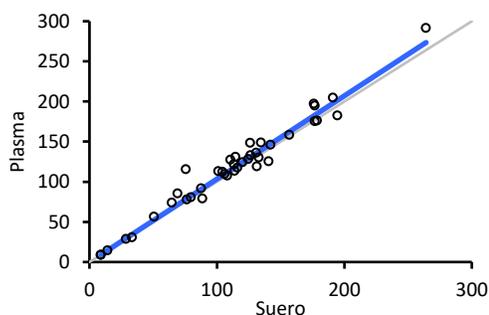
ND: no detectable

**Nota:** Se recomienda que cada laboratorio determine los intervalos de referencia para su propia población de pacientes. Los resultados de este ensayo deberán utilizarse junto con otra información clínica pertinente y aplicable.

**Tipo de muestra:**

Se compararon con el ELISA de inhibina B de Ansh 40 muestras emparejadas de suero y de plasma con heparina de litio. El análisis Passing-Bablok de los resultados produjo la siguiente regresión:

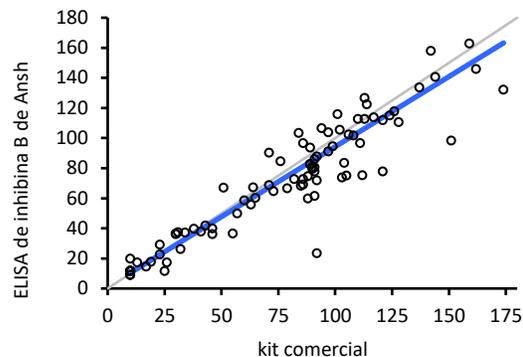
Plasma = 1,04 (suero) - 0,23  
(r = 0,98; p < 0,0001)

**Comparación de métodos:**

El ELISA de inhibina B se comparó con el kit comercial de inhibina B (método A) usando 97 muestras aleatorias de suero procedentes de personas de sexo masculino y femenino en el intervalo de 10-174 pg/ml.

El análisis Passing-Bablok de los resultados produjo la siguiente regresión:

ELISA de inhibina B (AL-107) = 0,93 (método A) + 1,08  
(r = 0,97; p < 0,0001)

**Valor previsto:**

Se calcularon los intervalos previstos para la inhibina B en muestras de suero utilizando muestras bien caracterizadas de personas de sexo masculino (n = 283) de 0-72 años y de personas de sexo femenino (n = 2832) de 0-76 años.

|                | Intervalo de edades | N    | Mediana de edad | Mediana de inhibina B (pg/ml) | Intervalo de referencia* Inhibina B (pg/ml) |
|----------------|---------------------|------|-----------------|-------------------------------|---|
| Sexo masculino | <15 días            | 21   | 3 días          | 158,0                         | 68-373                                      |
|                | 15-180 días         | 61   | 66 días         | 238,0                         | 42-516                                      |
|                | 0,6-7 años          | 31   | 1,28 años       | 110,0                         | 24-300                                      |
|                | 8-30 años           | 98   | 20 años         | 184,5                         | 47-383                                      |
| Sexo femenino  | 31-72 años          | 102  | 39 años         | 137,0                         | 10-357                                      |
|                | 1 día-12 años       | 65   | 0,6 años        | 25                            | 1-182                                       |
|                | 13-41 años**        | 162  | 27,8 años       | 78,4                          | 7,9-223                                     |
|                | 42-51 años**        | 35   | 47 años         | 26,3                          | 1-107                                       |
|                | 14-47 años***       | 1883 | 28,5 años       | 103,7                         | 6-359                                       |
|                | 14-44 años****      | 631  | 26,6 años       | 103,2                         | 10-266                                      |
|                | 51-76 años†         | 56   | 62 años         | 1,0                           | 1-11  |

\*Percentil 98; \*\*ciclo regular (fase folicular); \*\*\*oligomenorrea; \*\*\*\*amenorrea; †posmenopausia

**BIBLIOGRAFÍA**

- HHS Publication, 5th ed., 2007. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Disponible en: <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmb15/BMB15>
- DHHS (NIOSH) Publication No. 78-127, agosto de 1976. Current Intelligence Bulletin 13 - Explosive Azide Hazard. Disponible en: <http://www.cdc.gov/niosh>.
- Approved Guideline – Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18-A3. 2004. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Kricka L. Interferences in immunoassays – still a threat. Clin Chem 2000; 46: 1037-1038.

Este ensayo es apto para uso diagnóstico *in vitro*. Prohibida su venta en Estados Unidos.

El logotipo de Ansh Labs es una marca comercial Ansh Labs.



Manufactured by:  
Ansh Labs  
445 Medical Center Blvd.  
Webster, TX 77598-4217, EE. UU.

**European Representative:**

RD-RatioDiagnostics GmbH

Westerbachstr.47

60489 Frankfurt

Alemania



Los consumibles para Ansh Labs se entregan con las instrucciones de uso (IFU) en inglés. También puede ponerse en contacto con el representante local de ventas de Ansh Labs o con la empresa de asistencia técnica para obtener las IFU traducidas.

**ÚNICAMENTE PARA  
EXPORTACIÓN**

European CE Mark Version  
For Illustrative Purposes Only  
Refer to package insert included with  
the product for exact specifications.

|   |
|---|
| <b>Symbols used with Ansh Labs Assays</b> |
|---|

| Symbol  | English                      | Deutsch                      | Français                                 | Español                           | Italiano                           |
|---|------------------------------|------------------------------|--|-----------------------------------|------------------------------------|
|  | Consult instructions for use | Gebrauchsanweisung beachten  | Consulter les instructions d'utilisation | Consulte las instrucciones de uso | Consultare le istruzioni per l'uso |
|  | European Conformity          | CE-Konformitätskennzeichnung | Conformité aux normes européennes        | Conformidad europea               | Conformità europea                 |
|  | In vitro diagnostic device   | In-vitro-Diagnostikum        | Usage Diagnostic in vitro                | Para uso Diagnóstico in vitro     | Per uso Diagnostica in vitro       |
|  | Catalogue number             | Katalog-Nr.                  | Numéro de catalogue                      | Número de catálogo                | Numero di Catalogo                 |
|  | Lot. No. / Batch code        | Chargen-Nr.                  | Numéro de lot                            | Número de lote                    | Numero di lotto                    |
|  | Storage Temperature          | Lagerungstemperatur          | Température de conservation              | Temperatura de conservación       | Temperatura di conservazione       |
|  | Expiration Date              | Mindesthaltbarkeitsdatum     | Date limite d'utilisation                | Fecha de caducidad                | Data di scadenza                   |
|  | Legal Manufacturer           | Hersteller                   | Fabricant                                | Fabricante                        | Fabbricante                        |
| Content   | Content                      | Inhalt                       | Conditionnement                          | Contenido                         | Contenuto                          |
| Volume/No.  | Volume / No.                 | Volumen/Anzahl               | Volume/Quantité                          | Volumen/Número                    | Volume/Quantità                    |

European CE Mark Version  
 For Illustrative Purposes Only  
 Refer to package insert included with  
 the product for exact specifications