

# Progesterone



Enzyme immunoassay for the quantitative determination of Progesterone in human serum or plasma

Dosage immunoenzymatique pour la détermination quantitative de Progesterone dans le sérum ou le plasma humain

Inmunoensayo enzimático para la determinación cuantitativa de Progesterona en suero o plasma humano

## Only for in-vitro diagnostic use

English:	Page	2 to 6
Français:	Page	7 à 11
Espanol:	Página	12 a 17

Bibliography/ Bibliographie/ Bibliografía	Page / Página	18
---	---------------	----

Symbols Key / Explication des symboles/ Símbolos	Page/ Página	19
--	--------------	----

Summary of Test Procedure/ Résumé de la procédure de test/ Resumen de la técnica	Page / Página	20
--	---------------	----

## 1. INTRODUCTION

---

Progesterone is a C-21 steroid hormone involved in the female menstrual cycle, pregnancy (supports gestation) and embryogenesis of humans and other species. Progesterone is the major naturally occurring human progestagen.

Progesterone is important for aldosterone (mineralocorticoid) synthesis, as 17-hydroxyprogesterone is for cortisol (glucocorticoid).

Progesterone levels are relatively low in children and postmenopausal women. Adult males have levels similar to those in women during the follicular phase of the menstrual cycle.

In women, progesterone levels are relatively low during the preovulatory phase of the menstrual cycle, rise after ovulation, and are elevated during the luteal phase. If pregnancy occurs, progesterone levels are maintained at luteal levels initially. After delivery of the placenta and during lactation, progesterone levels are very low. The fall in progesterone levels following delivery is one of the triggers for milk production.

Progesterone is produced in the adrenal glands, the gonads (specifically after ovulation in the corpus luteum), the brain, and, during pregnancy, in the placenta.

Progesterone converts the endometrium to its secretory stage to prepare the uterus for implantation. If pregnancy does not occur, progesterone levels will decrease, leading, in the human, to menstruation.

Progesterone belongs to the group of neurosteroids that are found in high concentrations in certain areas in the brain and are synthesized there. Neurosteroids affect synaptic functioning, are neuroprotective, and affect myelination.

Progesterone has multiple effects outside of the reproductive system. Progesterone is thermogenic; it reduces spasm and relaxes smooth muscle. Bronchi are widened and mucus regulated. Progesterone acts as an antiinflammatory agent and regulates the immune response. Progesterone also assists in thyroid function, in bone building by osteoblasts.

Measurement of serum progesterone concentrations have been used in evaluating ovarian function.

## 2. INTENDED USE

---

Competitive immunoenzymatic colorimetric method for quantitative determination of Progesterone in serum or plasma.

## 3. PRINCIPLE OF THE ASSAY

---

Microtiter strip wells are precoated with anti-Progesterone antibodies (solid-phase). Progesterone in the sample competes with added horseradish peroxidase labelled Progesterone (enzyme-labelled antigen) for antibody binding. After incubation a bound/free separation is performed by solid-phase washing. The immune complex formed by enzyme-labelled antigen is visualized by adding Tetramethylbenzidine (TMB) substrate which gives a blue reaction product. The intensity of this product is **inversely** proportional to the amount of Progesterone in the sample. Sulphuric acid is added to stop the reaction. This produces a yellow endpoint colour. Absorption at 450 nm is read using an ELISA microwell plate reader.

## 4. MATERIALS

---

### 4.1. Reagents supplied

- **Anti-Progesterone IgG Coated Wells:** 12 breakapart 8-well snap-off strips coated with anti-Progesterone IgG; in resealable aluminium foil.
- **Stop Solution:** 1 bottle containing 15 ml sulphuric acid, 0.15 mol/l (avoid any skin contact).
- **Progesterone-HRP Conjugate:** 1 bottle containing 22 ml of horseradish peroxidase labelled Progesterone.
- **TMB Substrate Solution:** 1 bottle containing 15 ml 3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-TMB 0.26 g/l) (avoid any skin contact).
- **Wash solution 10x conc.:** 1 bottle containing 50 ml of a 10x concentrated solution of phosphate buffer 0.2 M, Proclin < 0.0015%
- **Progesterone control:** 1 bottle containing 1 ml of a lot-specific control solution. The concentration is indicated on the label of the bottle.
- **Progesterone Standards:** 5 bottles, 1 ml each
  - Standard 0: 0 ng/ml
  - Standard 1: 0.2 ng/ml
  - Standard 2: 1.0 ng/ml
  - Standard 3: 8.0 ng/ml
  - Standard 4: 40.0 ng/ml

### 4.2. Materials supplied

- 1 Strip holder
- 1 Cover foils
- 1 Test protocol
- 1 Distribution and identification plan

### 4.3. Materials and Equipment needed

- ELISA microwell plate reader, equipped for the measurement of absorbance at 450 nm, 620-630 nm
- Manual or automatic equipment for rinsing wells
- Pipettes to deliver volumes between 10 and 1000 µl
- Distilled water
- Timer
- 

## 5. STABILITY AND STORAGE

---

The reagents are stable up to the expiry date stated on the label when stored at 2...8 °C in the dark.

## 6. REAGENT PREPARATION

---

*It is very important to bring all reagents, samples and standards to room temperature (22...28°C) for at least 30 minutes before starting the test run! At the end of the assay, store immediately the reagents at 2-8°C; avoid long exposure to room temperature.*

### 6.1. Coated snap-off Strips

The ready to use break apart snap-off strips are coated with anti-Progesterone IgG antibodies. Store at 2...8°C. Open the bag only when it is at room temperature. *Immediately after removal of strips, the remaining strips should be resealed in the aluminium foil along with the desiccant supplied and stored at 2...8 °C; stability until expiry date.*

### 6.2. Progesterone-HRP Conjugate

Progesterone-HRP Conjugate is a ready to use solution.

### 6.3. Progesterone Standards

The standards are ready to use. Before using leave 5 min on a rotating mixer. After first opening stable for another 6 months at 2...8°C.

### 6.4. TMB Substrate Solution

The bottle contains 15 ml of a tetramethylbenzidine/hydrogen peroxide system. The reagent is ready to use and has to be stored at 2...8°C in the dark. *The solution should be colourless or could have a slight blue tinge. If the substrate turns into blue, it may have become contaminated and should be thrown away.*

### 6.5. Stop Solution

The bottle contains 15 ml 0.15 M sulphuric acid solution (R 36/38, S 26). This ready to use solution has to be stored at 2...8°C.

### 6.6. Wash Solution

Dilute the content of the concentrated Wash Solution with distilled water to a final volume of 500 ml prior to use. For smaller volumes respect the 1:10 dilution ratio. The diluted wash solution is stable for 30 days at 2...8°C. In concentrated wash solution it is possible to observe the presence of crystals, in this case mix at room temperature until complete dissolution of crystals, for greater accuracy dilute the whole bottle of concentrated wash solution to 500ml on taking care also to transfer crystals with washing of the bottle, then mix until crystals are completely dissolved.

### 6.7. Progesterone Control

The bottle contains 1 ml of a lot-specific control solution. The concentration is indicated on the label.

## 7. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

---

The determination of Progesterone can be performed in plasma as well as in serum. Store the sample at -20°C if the determination is not performed on the same day as the sample collection. If samples are stored frozen, mix thawed samples well before testing. *Avoid repeated freezing and thawing.*

## 8. ASSAY PROCEDURE

---

### 8.1. Test Preparation

Please read the test protocol carefully **before** performing the assay. Result reliability depends on strict adherence to the test protocol as described. Prior to commencing the assay, the distribution and identification plan for all specimens and standards should be carefully established on the result sheet supplied in the kit. Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder. Please allocate at least:

1 well	(e.g. A1)	for the substrate blank
2 wells	(e.g. B1+C1)	for standard 0
2 wells	(e.g. D1+E1)	for standard 1
2 wells	(e.g. F1+G1)	for standard 2
2 wells	(e.g. H1+A2)	for standard 3
2 wells	(e.g. B2+C2)	for standard 4
2 wells	(e.g. D2+E2)	for control

*It is necessary to determine standards, control and patient samples in duplicate.*

Perform all assay steps in the order given and without any appreciable delays between the steps.

A clean, disposable tip should be used for dispensing each standard and each patient sample.

1. Dispense 20 µl standards, control and samples into their respective wells.
2. Add 200 µl Progesterone-HRP Conjugate to each well. Leave well A1 for substrate blank.
3. Cover wells with the foil supplied in the kit.
4. **Incubate for 1 hour at 37 °C.**
5. When incubation has been completed, remove the foil, aspirate the content of the wells and wash each well three times with 300 µl diluted wash solution. Avoid overflows from the reaction wells.  
**Important note:** During each washing step, gently shake the plate for 5 seconds and remove excess solution by tapping the inverted plate on an absorbent paper towel.

**Automatic washer:** In case you use automatic equipment, wash the wells at least 5 times.

*Note: Washing is critical! Insufficient washing results in poor precision and falsely elevated absorbance values.*

6. Dispense 100 µl TMB Substrate Solution into all wells.
7. **Incubate for exactly 15 min at room temperature (22...28°C) in the dark.**
8. Dispense 100 µl Stop Solution into all wells in the same order and at the same rate as for the TMB Substrate Solution. Shake the microplate gently.  
*Any blue colour developed during the incubation turns into yellow.*
9. Measure the absorbance of the specimen at 450 nm against a reference wavelength of 620-630 nm or against blank within 5 minutes.

## 8.2. Measurement

Adjust the ELISA Microwell Plate Reader **to zero** using the **substrate blank in well A1**.

*If - due to technical reasons - the ELISA reader cannot be adjusted to zero using the substrate blank in well A1, subtract the absorbance value of well A1 from all other absorbance values measured in order to obtain reliable results!*

**Measure the absorbance** of all wells at **450 nm** and record the absorbance values for each standard and patient sample in the distribution and identification plan.

Where applicable calculate the **mean absorbance values** of all duplicates.

## 9. RESULTS

---

### 9.1. Calculation of results

Calculate the mean absorbance for each point of the standard curve and each sample. Plot the mean value of absorbance of the standards against concentration. Draw the best-fit curve through the plotted points. (Four Parameter Logistic).

Interpolate the values of the samples on the standard curve to obtain the corresponding values of the concentrations expressed in ng/ml.

### 9.2. Reference values

The following value for serum or plasma Progesterone should be considered as a guideline:

Men		< 0.1 ng/ml
Women	follicular phase	0.1 – 1.4 ng/ml
	mid luteinic phase	4.0 – 25.0 ng/ml
	menopause	<1.0 ng/ml
pregnancy	<u>week</u>	<u>ng/ml</u>
	18-21	53-76
	22-25	60-86
	26-29	71-133
	30-33	86-142
	34-37	104-175
	38-41	117-187

Please pay attention to the fact that the determination of a range of expected values for a "normal" population in a given method is dependent on many factors, such as specificity and sensitivity of the method used and type of population under investigation. Therefore each laboratory should consider the range given by the manufacturer as a general indication and produce their own range of expected values based on the indigenous population where the laboratory works.

## 10. QUALITY CONTROL

---

Each laboratory should assay controls at normal, high and low levels range of Progesterone for monitoring assay performance. These controls should be treated as unknowns and values determined in every test procedure performed. Quality control charts should be maintained to follow the performance of the supplied reagents. Pertinent statistical methods should be employed to ascertain trends. The individual laboratory should set acceptable assay performance limits. Other parameters that should be monitored include the 80, 50 and 20% intercepts of the standard curve for run-to-run reproducibility. In addition, maximum absorbance should be consistent with past experience. Significant deviation from established performance can indicate unnoticed change in experimental conditions or degradation of kit reagents. Fresh reagents should be used to determine the reason for the variations.

## 11. SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

---

### 11.1. Precision

#### Intra Assay Variation

Within run variation was determined by replicate determination (20x) of three different control sera in one assay. The within assay variability is  $\leq 4\%$ .

#### Inter Assay Variation

Between run variation was determined by replicate measurements (10x) of three different control sera in different lots. The between assay variability is  $\leq 9.3\%$ .

### 11.2. Cross Reactivity

The cross reaction of the antibody calculated at 50% according to Abraham is:

Progesterone	100%
Testosterone	0.37%
17 $\alpha$ OH Progesterone	0.29
17 $\beta$ Estradiol	0.0013%
Estrone	0.00053%
Estriol	< 0.0001%
Cortisol	< 0.0001%

### 11.3. Analytic Sensitivity

The lowest detectable concentration of Progesterone that can be distinguished from the zero standard is 0.05 ng/ml at the 95 % confidence limit.

### 11.4. Accuracy

The recovery of 1.0 – 2.0 – 4.0 – 8.0 ng/ml Progesterone added to sample gave an average value ( $\pm$ SE) of 100.88%  $\pm$  8.29 % with reference to the original concentrations.

### 11.5. Method comparison

The NovaTec Progesterone ELISA was compared to Adaltis Progesterone EIAGen. Serum samples of 31 serum samples were analysed according in both test systems.

The linear regression curve was calculated.

$$\text{Progesterone NovaTec} = 0.97 * \text{Progesterone Adaltis} + 0.04$$

$$r^2 = 0.887$$

## 12. PRECAUTIONS AND WARNINGS

---

- In compliance with article 1 paragraph 2b European directive 98/79/EC the use of the in vitro diagnostic medical devices is intended by the manufacturer to secure suitability, performances and safety of the product. Therefore the test procedure, the information, the precautions and warnings in the instructions for use have to be strictly followed. The use of the testkits with analyzers and similar equipment has to be validated. Any change in design, composition and test procedure as well as for any use in combination with other products not approved by the manufacturer is not authorized; the user himself is responsible for such changes. The manufacturer is not liable for false results and incidents for these reasons. The manufacturer is not liable for any results by visual analysis of the patient samples.
- Only for in-vitro diagnostic use.
- All components of human origin used for the production of these reagents have been tested for anti-HIV antibodies, anti-HCV antibodies and HBsAg and have been found to be non-reactive. Nevertheless, all materials should still be regarded and handled as potentially infectious.

- Do not interchange reagents or strips of different production lots.
- No reagents of other manufacturers should be used along with reagents of this test kit.
- Do not use reagents after expiry date stated on the label.
- Use only clean pipette tips, dispensers, and lab ware.
- Do not interchange screw caps of reagent vials to avoid cross-contamination.
- Close reagent vials tightly immediately after use to avoid evaporation and microbial contamination.
- After first opening and subsequent storage check conjugate and control vials for microbial contamination prior to further use.
- To avoid cross-contamination and falsely elevated results pipette patient samples and dispense conjugate without splashing accurately to the bottom of wells.
- The ELISA is only designed for qualified personnel who are familiar with good laboratory practice.
- Maximum precision is required for dispensation of the reagents.
- The TMB Substrate contains an irritant, which may be harmful if inhaled, ingested or absorbed through the skin. To prevent injury, avoid inhalation, ingestion or contact with skin and eyes.
- Avoid the exposure of TMB substrate to direct sunlight, metal or oxidants.
- The Stop Solution consists of a diluted sulphuric acid solution. Sulphuric acid is poisonous and corrosive and can be toxic if ingested. To prevent chemical burns, avoid contact with skin and eyes.
- For higher values, for example in pregnancy, dilute the sample; consider the dilution factor when calculating the result.
- Treatment of the patient with cortisone, natural or synthetic steroids can impair Progesterone determination.
- Addition of the TMB Substrate solution initiates a kinetic reaction, which is terminated by the addition of the Stop Solution. Therefore, the TMB Substrate and the Stop Solution should be added in the same sequence to eliminate any time deviation during the reaction.
- Observe the guidelines for performing quality control in medical laboratories by assaying controls and/or pooled sera.
- Microbiologically contaminated samples should not be used in the assay. Highly lipemic or haemolysed specimens should also not be used.
- Plate readers measure vertically. Do not touch the bottom of the wells.
- It is important that the time of reaction in each well is held constant for reproducible results. Pipetting of samples should not extend beyond ten minutes to avoid assay drift. If more than 10 minutes are needed, follow the same order of dispensation. If more than one plate is used, it is recommended to repeat the dose response curve in each plate.
- The incomplete or inaccurate liquid removal from the wells could influence the assay precision and/or increase the background. To improve the performance of the kit on automatic systems is recommended to increase the number of washes.
- Some reagents contain small amounts of Proclin 300<sup>®</sup> as preservative. Avoid contact with skin or mucosa.
- This method allows the determination of Progesterone from 0.2 ng/ml to 40 ng/ml.

### 12.1. Disposal Considerations

Residues of chemicals and preparations are generally considered as hazardous waste. The disposal of this kind of waste is regulated through national and regional laws and regulations. Contact your local authorities or waste management companies which will give advice on how to dispose hazardous waste.

## 13. ORDERING INFORMATION

---

Prod. No.:

DNOV006

Progesterone (96 Determinations)

## 1. INTRODUCTION

---

La progestérone (C21) est une hormone stéroïdienne adaptée au cycle menstruelle, à la grossesse (support à la gestation) et à l'embryogenèse des êtres humains et des autres espèces.

La progestérone est importante pour la synthèse de l'aldostérone (minéralocorticoïde) et le 17-OH progestérone pour le cortisol (glycocorticoïde). Les taux de progestérone sont relativement bas chez les enfants et les femmes en post-ménopause. Les hommes adultes présentent des taux analogues à ceux des femmes pendant la phase folliculaire du cycle menstruel.

Chez les femmes, les taux de progestérone sont relativement bas pendant la phase pré-ovulatoire, ils augmentent après l'ovulation et sont élevés pendant la phase lutéale. En cas de grossesse, les taux de progestérone se rapprochent des taux lutéaux. Après l'accouchement et pendant l'allaitement, les taux de progestérone sont très bas. La chute des taux de progestérone qui suivent l'accouchement est l'un des déclencheurs de la production de lait.

La progestérone est produite dans les glandes adrénales, dans les gonades (en particulier après l'ovulation, dans le corps jaune), dans le cerveau et, pendant la grossesse, dans le placenta.

La progestérone est nécessaire pour la « conversion » de l'endomètre en phase sécrétoire afin de préparer l'utérus pour l'implant. Si la grossesse n'a pas lieu, les taux de progestérone diminuent en débouchant, chez l'être humain, à la période menstruelle.

La progestérone appartient au groupe des neurostéroïdes qui sont présents dans certaines zones du cerveau. La progestérone est impliquée dans le fonctionnement synaptique, elle a des effets neuroprotecteurs et elle affecte le processus de myélinisation.

La progestérone a de nombreux effets même en-dehors du système de reproduction. La progestérone est thermogénique, réduit les spasmes et détend le muscle lisse. Les bronches sont dilatées et la sécrétion du mucus est régulée. La progestérone est un agent anti-inflammatoire et elle régule la réponse immunitaire. Elle est impliquée dans la fonction thyroïdienne et dans l'ostéogenèse.

La mesure des concentrations de progestérone dans le sérum sert à l'évaluation de la fonction ovarienne.

## 2. INDICATION D'UTILISATION

---

Méthode immunoenzymatique colorimétrique par compétition pour la détermination quantitative de la concentration de la progestérone dans le sérum ou le plasma humain.

## 3. PRINCIPE DU DOSAGE

---

La progestérone (antigène) présent dans l'échantillon rentre en compétition avec la progestérone antigénique marquée à la peroxydase de raifort (HRP, Conjugué) par rapport à l'anticorps anti-progestérone adsorbé sur microplaque (phase solide). Après de la incubation, la séparation libre-lié est obtenue par simple lavage de la phase solide.

Après, l'enzyme HRP présent dans la fraction liée catalyse la réaction entre le substrat ( $H_2O_2$ ) et le substrat TMB, en développant une coloration bleue qui vire au jaune après ajout de la solution d'arrêt ( $H_2SO_4$ ). L'intensité de la couleur développée est inversement proportionnelle à la concentration de progestérone dans l'échantillon. La concentration de la progestérone dans l'échantillon est calculée sur la base d'une courbe d'étalonnage. Un lecteur de microplaques ELISA permet la lecture de l'absorption à 450 nm.

## 4. MATERIELS

---

### 4.1. Réactifs fournis

- **Puits recouverts d'IgG d'Anti Progesterone** : 12 bandes détachables enduites d'IgG d'Anti-Progesterone de 8 puits, en sachet d'aluminium refermable.
- **Solution stop** : 1 flacon contenant 15 ml d'acide sulfurique, 0.15 mol/l (éviter tout contact avec la peau).
- **Conjugué Progesterone HRP** : 1 flacon contenant 22 ml de Progesterone marqué à la peroxydase de raifort.
- **Solution de TMB** : 1 flacon contenant 15 ml de 3, 3', 5, 5'-Tétraméthylbenzidine ( $H_2O_2$ -TMB 0.26g/l) (éviter tout contact avec la peau).
- **Solution de lavage (concentrée x 10)** : 1 flacon contenant 50 ml d'une solution de tampon phosphate concentrée 10 fois Tampon phosphaté 0,2 M, Proclin < 0.0015%.
- **Contrôle Progesterone** : 1 flacon contenant 1 ml d'un lot spécifique solution de contrôle. La concentration est indiquée sur l'étiquette.
- **Etalons de Progesterone**: 5 flacons, 1 ml chaque
  - Etalon 0: 0 ng/ml
  - Etalon 1: 0.2 ng/ml
  - Etalon 2: 1.0 ng/ml
  - Etalon 3: 8.0 ng/ml
  - Etalon 4: 40.0 ng/ml

## 4.2. Matériels fournis

- 1 support de plaque
- 1 jeu de feuilles de recouvrement
- 1 mode d'emploi
- 1 schéma de distribution et d'identification

## 4.3. Matériels et équipements requis

- Lecteur de microplaques ELISA, pour mesure l'absorbance à 450 nm, 620-630 nm
- Equipement manuel ou automatique pour le rinçage des puits
- Pipettes permettant de délivrer un volume de 10 à 1000 µl
- Eau distillée
- Chronomètre

## 5. STABILITÉ ET CONSERVATION

---

Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette s'ils sont conservés entre 2°C et 8 °C à l'obscurité.

## 6. PREPARATION DES REACTIFS

---

*Il est très important que tous les réactifs, échantillons et contrôles soient portés à température ambiante (22°C – 28 °C) pour au moins 30 minutes. À la fin de l'essai conservent les réactifs immédiatement à 2-8 °C ; évitez la longue exposition à température ambiante.*

### 6.1. Bandes détachables enduites

Les bandes détachables sont enduites d'anticorps d'IgG anti-Progesterone et sont prêtes à l'emploi. Conserver entre 2°C et 8°C. N'ouvrir l'emballage que si la pièce est à température ambiante. *Après avoir prélevé les bandes nécessaires, refermer immédiatement les autres dans le sachet d'aluminium avec le déshydratant fourni et les conserver entre 2°C et 8°C ; elles sont stables jusqu'à la date de péremption.*

### 6.2. Conjugué Progesterone-HRP

Solution de conjugué Progesterone-HRP prête à l'emploi.

### 6.3. Etalons de Progesterone

Les étalons sont prêts à l'emploi. Mettre à agiter délicatement sur un agitateur rotatif pendant au moins 5 minutes. Stable 6 mois à 2÷8°C à compter de l'ouverture du flacon.

### 6.4. Solution TMB

Le flacon contient 15 ml d'un mélange de peroxyde d'hydrogène et de tétraméthylbenzidine. Le réactif est prêt à l'emploi et doit être conservé 2°C et 8°C à l'obscurité. *La solution doit être incolore ou avoir une légère teinte bleue. Si le substrat devient bleu, il a pu être contaminé et doit être remplacé.*

### 6.5. Solution stop

Le flacon contient 15 ml d'une solution d'acide sulfurique 0.15 M (R 36/38, S 26). Cette solution est prête à l'emploi et doit être conservée entre 2°C et 8 °C

### 6.6. Solution de lavage

Diluer le contenu de la solution de lavage concentrée avec de l'eau distillée jusqu'à un volume final de 500 ml avant utilisation. Pour les petits volumes respecter la dilution au 10<sup>ème</sup>. La solution de lavage diluée est stable pendant 30 jours entre 2°C et 8 °C. Il est possible d'observer la présence de cristaux dans la solution de lavage concentrée, dans ce cas, mélanger à température ambiante jusqu'à la dissolution complète des cristaux, pour une meilleure efficacité diluer tout le flacon de solution de lavage jusqu'à 500 ml en surveillant le transfert de cristaux avec le lavage de la bouteille, puis mélanger jusqu'à la dissolution complète des cristaux.

### 6.7. Contrôle Progesterone

Le flacon contient 1 ml d'une solution de contrôle prête à l'emploi. La concentration est indiquée sur l'étiquette.

## 7. PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

---

La détermination de Progesterone peut être effectuée sur du plasma ou du sérum humain. Conserver les échantillons à -20°C si la détermination n'est pas effectuée le jour du prélèvement. Si les échantillons sont conservés congelés, bien mélanger les échantillons décongelés avant le dosage. *Eviter les cycles répétés de congélation et de décongélation.*



## 8. PROCÉDE DU DOSAGE

---

### 8.1. Préparation du dosage

Lire attentivement la notice d'emploi **avant de** réaliser le dosage. La fiabilité des résultats dépend du suivi strict du protocole. Avant de commencer le dosage, déterminer, sur le formulaire fourni dans le kit, le plan de distribution et d'identification des échantillons et des contrôles. Sélectionner le nombre de bandes ou de puits nécessaires et les placer sur le support. Réserver au moins :

1 puits	(ex. A1)	Pour le blanc
2 puits	(ex. B1+C1)	Pour l'étalon 0
2 puits	(ex. D1+E1)	Pour l'étalon 1
2 puits	(ex. F1+G1)	Pour l'étalon 2
2 puits	(ex. H1+A2)	Pour l'étalon 3
2 puits	(ex. B2+C2)	Pour l'étalon 4
2 puits	(ex. D2+E2)	Pour le contrôle

*Il est recommandé de déterminer les contrôles et les échantillons du patient en doublets.*

Réaliser toutes les étapes du dosage dans l'ordre donné et sans interruption entre les étapes.

Un cône de pipette propre et jetable doit être utilisé pour distribuer chaque contrôle et échantillon.

1. Pipeter 20 µl des étalons, de contrôle et des échantillons dans leurs puits respectifs.
2. Ajouter 200 µl de conjugué Progesterone-HRP dans chaque puits. Garder le puits A1 pour le blanc.
3. Couvrir les puits avec le couvercle fourni dans le kit.
4. **Incuber pendant 1 heure à 37 °C.**
5. À la fin de l'incubation, enlever le couvercle, aspirer le contenu des puits et laver chaque puits et trois fois avec 300 µl de lavage diluée. Éviter les débordements de puits de réaction. Pendant chaque pas de lessive secouez doucement la plaque depuis 5 secondes et enlevez la solution d'excès en tapant la plaque inversée sur un essuie-mains en papier absorbant. (Si vous utilisez l'équipement automatisé, lavez les puits au moins 5 fois).  
*Note : L'étape de lavage est très importante ! Un lavage insuffisant peut conduire à une précision faible et des valeurs d'absorbance faussement élevées.*
6. Pipeter 100 µl de solution de TMB dans tous les puits.
7. **Incuber pendant exactement 15 min à température ambiante (22 – 28°C) à l'obscurité.**
8. Pipeter 100 µl de solution stop dans tous les puits dans le même ordre à la même vitesse que pour la solution de TMB. Secouer doucement la microplaque.  
*La couleur bleue développée pendant l'incubation vire au jaune.*
9. Mesurer l'absorbance (E) des échantillons à 450 nm contre une longueur d'onde de référence de 620-630 nm ou contre le blanc au cours de 5 minutes.

### 8.2. Mesure

Faire le **zéro** du lecteur ELISA à l'aide du blanc dans le puits A1.

*Si - pour des raisons techniques - le lecteur d'ELISA ne peut pas être ajusté à zéro en utilisant le blanc dans le puits A1, soustraire la valeur d'absorbance du puits A1 de toutes les autres valeurs d'absorbance mesurées afin d'obtenir des résultats fiables !*

**Mesurer l'absorbance** de tous les puits à 450 nm et enregistrer les valeurs d'absorbance pour chaque contrôle et échantillon de patient dans le plan de distribution et d'identification.

Calculer **les valeurs moyennes d'absorbance pour tous les doublets, si nécessaires.**

## 9. RESULTATS

---

### 9.1. Calcul des résultats

Calculer l'absorbance moyenne pour chaque point du courbe étalon et de chaque échantillon. Tracer la valeur d'absorbance moyenne des étalons par rapport à la concentration. Dessiner le meilleur ajustement de la courbe sur les points tracés (4 paramètres logistiques).

Interpoler les valeurs des échantillons sur le courbe étalon pour obtenir les valeurs de concentrations correspondantes en pg/ml.

## 9.2. Valeurs de Référence

Les concentrations de progestérone dans le sérum ou le plasma sont comprises dans les intervalles suivants :

		ng/ml	
<b>HOMMES :</b>		< 1,0	
	<b>phase folliculaire</b>	0,1 - 1,4	
	<b>phase mi-lutéale</b>	4,0 - 25,0	
	<b>ménopause</b>	< 1,0	
	<b>Semaines</b>		
<b>FEMMES :</b>		18 - 21	53 - 76
		22 - 25	60 - 86
	<b>grossesse</b>	26 - 29	71 - 133
		30 - 33	86 - 142
		34 - 37	104 - 175
		38 - 41	117 - 187

Il est important de noter que la détermination d'une gamme de valeurs attendues dans une méthode donnée pour une population de «normal» est tributaire de nombreux facteurs, tels que la spécificité et la sensibilité de la méthode en usage, et la population étudiée. Par conséquent, chaque laboratoire devrait examiner la gamme spécifiée par le fabricant comme un guide général et de produire leur propre gamme de valeurs attendues sur la base des laboratoires où la population autochtone habite.

## 10. CONTROLE QUALITE

---

Chaque laboratoire devrait analyser les échantillons dans la gamme des niveaux élevés, normaux et bas de progestérone pour vérifier les prestations de l'analyse. Ces échantillons devraient être traités comme inconnus et les valeurs déterminées devraient être dans chaque test effectué. Les tableaux de contrôle de la qualité devraient être observés afin de suivre les prestations des réactifs fournis. Des méthodes statistiques appropriées devraient être employées pour vérifier la tendance. Le laboratoire devrait définir des limites d'acceptabilité des prestations d'analyse. Les autres paramètres qui devraient être contrôlés incluent les interceptions de 80, 50 et 20% de la courbe d'étalonnage pour évaluer la reproductibilité. De plus, la capacité d'absorption maximale devrait être constante avec l'expérience précédente. La déviation significative par rapport aux prestations établies peut indiquer un changement non observé des conditions expérimentales ou une dégradation des réactifs du coffret. Des réactifs frais doivent être utilisés pour déterminer le motif des variations.

## 11. PERFORMANCE DU DOSAGE

---

### 11.1. Précision

#### Variation Intra Dosage

La variation intra dosage a été déterminée par un répliquant (20x) sur trois sérums différents dans un dosage. La variation intra dosage est  $\leq 4\%$ .

#### Variation Inter Dosage

La variation inter dosage a été déterminée en répliquant la mesure (10x) de trois sérums de contrôle différents en lots différents. La variation inter dosage est  $\leq 9,3\%$ .

### 11.2. Spécificité analytique

La réaction croisée des anticorps calculée à 50% selon Abraham :

Progestérone	100 %
Testostérone	0,37 %
17 OH-progestérone	0,29 %
17-beta Estradiol	0,0013 %
Estrone	0,00053 %
Estriol	< 0,0001 %
Cortisol	< 0,0001 %

### 11.3. Sensibilité Analytique

La plus petite concentration détectable de Progesterone par l'étalon 0 est 0.05 ng/ml avec une limite de confiance de 95%.

### 11.4. Exactitude

L'épreuve de récupération conduite sur des échantillons enrichis avec 1.0 – 2.0 – 4.0 – 8.0 ng/ml de Progesterone la donné une valeur moyenne ( $\pm$ SD) de 100.88 %  $\pm$  8.29 %.

## 11.5. Comparaison de méthode

Le coffret NovaTec ELISA pour la Progesterone a été comparé avec le coffret Adaltis EIAGen à la Progesterone disponible en commerce. 31 échantillons de sérum ont été testés.

La courbe de régression est :

(Progesterone. NovaTec) = 0,97\*(Progesterone Adaltis) + 0,04

$r^2 = 0,887$

## 12. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

---

- En accord avec l'article 1 paragraphe 2b de la directive européenne 98/79/EC, l'utilisation des dispositifs médicaux de diagnostic in vitro est destinée par le fabricant à garantir la pertinence, les performances et la sécurité du produit. Par conséquent, la procédure de dosage, l'information, les précautions et mises en garde du mode d'emploi doivent être suivies de façon stricte. L'utilisation de ces kits avec des automates ou dispositifs similaires doit être validée. Aucun changement de la conception, composition et procédure de dosage, ainsi que l'utilisation avec d'autres produits non approuvés par le fabricant, ne sont autorisés ; seul l'utilisateur est responsable de tels changements. Le fabricant n'est pas responsable des faux résultats et des incidents dus à ces modifications. Le fabricant n'est pas responsable des résultats fournis par analyse visuelle des échantillons des patients.
- Uniquement pour diagnostic in vitro. Ne pas utiliser pour usage interne ou externe chez les Humains ou les Animaux.
- Suivre les Bonnes Pratiques de Laboratoires (BPL) pour la manipulation de produits sanguins.
- Tous les composants d'origine humaine utilisés pour la fabrication de ces réactifs ont été analysés et ont été testés non réactifs aux antigènes HBs, en anticorps anti-VIH et en anticorps anti-VHC. Néanmoins, tous les produits doivent être considérés et traités comme étant potentiellement infectieux.
- Ne pas échanger les réactifs ou les bandes provenant de différents lots de production.
- Ne pas utiliser de réactifs provenant d'autres fabricants avec les réactifs de ce kit.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Utiliser seulement des cônes de pipette, des distributeurs et du matériel de laboratoire propres.
- Ne pas échanger les bouchons des flacons, pour éviter la contamination croisée
- Fermer les flacons de réactifs immédiatement après l'utilisation pour éviter l'évaporation et la contamination microbienne.
- Avant une nouvelle utilisation, vérifier les flacons de conjugué et de contrôle, déjà utilisés, pour exclure une contamination microbienne.
- Pour éviter la contamination croisée et des résultats faussement élevés, introduire les échantillons de patients et le conjugué exactement au fond des puits en évitant les éclaboussures.
- Quand l'utilisation a automatisé l'équipement, l'utilisateur a la responsabilité de s'assurer que le kit a été convenablement évalué.
- Certains réactifs contiennent de petites quantités de Proclin 300<sup>®</sup> comme conservateur. Eviter tout contact avec peau et les muqueuses.
- Le TMB est irritant, ce qui peut être nocif s'il est inhalé, ingéré ou absorbé à travers la peau. Eviter toute inhalation, ingestion ou contact avec la peau et les yeux pour prévenir de ces risques.
- La solution stop est une solution d'acide sulfurique diluée. L'aide sulfurique est un poison corrosif et peut être toxique s'il est ingéré. Eviter tout contact avec la peau ou les yeux pour prévenir des brûlures chimiques.
- Suivre la notice pour les contrôles qualité dans les laboratoires médicaux en dosant les contrôles et/ou les sérums.
- Les échantillons microbiologiquement contaminés ne doivent pas être utilisés pour le dosage. Les échantillons hautement lipémiques ou hémolysés ne doivent pas être utilisés non plus.
- Les lecteurs de microplaques mesurent verticalement. Ne pas toucher le fond des puits.
- Si le liquide n'est pas complètement extrait des puits, cela peut influencer la précision du dosage et/ou augmenter le bruit de fond. Pour améliorer la performance du kit sur les systèmes automatiques ELISA, on recommande d'augmenter le nombre de se lave.
- La méthode ELISA de NovaTec est destinée à un personnel qualifié qui est familiarisé avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire.
- L'addition de la solution de substrat initie la réaction cinétique qui se termine par l'ajout de solution stop. Par conséquent, l'addition de solution de substrat et de solution stop doit être faite durant la manipulation pour éliminer tous risques de dépassement de la durée de réaction.
- Cette méthode permet de déterminer des concentrations de Progesterone de 0.2 ng/ml à 40 ng/ml.

### 12.1. Elimination des déchets

Les résidus des produits chimiques et des préparations sont considérés en général comme des déchets dangereux. L'élimination de ce type de déchet est réglementée par des lois et réglementations nationales et régionales. Contacter les autorités compétentes ou les sociétés de gestion des déchets pour obtenir des renseignements sur l'élimination des déchets dangereux.

## 13. INFORMATION POUR LES COMMANDES

---

Prod. No.:

DNOV006

Progesterone (96 Dosages)

## 1. INTRODUCCIÓN

---

La progesterona es una hormona esteroide C-21 que participa en el ciclo menstrual femenino, el embarazo (apoya la gestación) y la embriogénesis de los seres humanos y otras especies. La progesterona es el principal progestágeno natural humano.

La progesterona es importante para la síntesis de la aldosterona (mineralcorticoide), como la 17-hidroxyprogesterone, es para el cortisol (glucocorticoide).

Los niveles de progesterona son relativamente bajos en los niños y las mujeres posmenopáusicas. Los hombres adultos tienen niveles similares a los de las mujeres, durante la fase folicular del ciclo menstrual.

En las mujeres, los niveles de progesterona son relativamente bajos durante la fase pre-ovulatoria del ciclo menstrual, aumentan después de la ovulación, y son elevados durante la fase lútea. Si se produce el embarazo, los niveles de progesterona se mantienen a niveles de la fase lútea inicial. Después de la entrega de la placenta y durante la lactancia, los niveles de progesterona son muy bajos. La caída en los niveles de progesterona después del parto es uno de los desencadenantes de la producción de leche.

La progesterona se produce en las glándulas suprarrenales, las gónadas (específicamente después de la ovulación en el cuerpo lúteo), el cerebro y, durante el embarazo, en la placenta.

La progesterona convierte el endometrio a su fase de secreción para preparar el útero para su implantación. Si no ocurre el embarazo, los niveles de progesterona se reducen, lo que, en el ser humano, desencadena en la menstruación.

La progesterona pertenece al grupo de los neuroesteroides que se encuentran en altas concentraciones en ciertas áreas del cerebro y donde se sintetiza. Los neuroesteroides afectan el funcionamiento sináptico, son neuroprotectores y afectan a la mielinización.

La progesterona tiene múltiples efectos fuera del sistema reproductivo. La progesterona es termogénica, reduce los espasmos y relaja el músculo liso. Ensancha los bronquios y regula la producción de moco. La progesterona actúa como un agente antiinflamatorio y regula la respuesta inmunitaria. La progesterona también ayuda en la función tiroidea, en la construcción de hueso por los osteoblastos. La medición de las concentraciones de progesterona sérica es utilizada en la evaluación de la función ovárica.

## 2. USO

---

Método inmunoenzimático competitivo y colorimétrico para la determinación cuantitativa de progesterona en suero o plasma humano.

## 3. FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

---

Los pozos de microtitulación de las tiras se encuentran recubiertos con anticuerpos anti-progesterona. La Progesterona presente en la muestra compete por la unión a éstos anticuerpos con progesterona marcada con peroxidasa de rábano picante (HRP por sus siglas en inglés *horseradish peroxidase*) o antígeno marcado con enzima. Una vez finalizada la incubación, se lleva a cabo una separación del complejo unido/libre mediante el lavado de la fase sólida. El complejo inmune formado por el antígeno marcado con enzima se visualiza mediante la adición de tetrametilbencidina (TMB), la cual produce un producto de reacción azul. La intensidad de este producto es **inversamente** proporcional a la cantidad de progesterona presente en la muestra. El ácido sulfúrico se agrega para detener la reacción. Esto produce un color amarillo estable. La absorción a 450 nm se lee con un lector de microplacas de ELISA.

## 4. MATERIALES

---

### 4.1. Reactivos suministrados

- **Pozos recubiertos con anti-progesterona IgG:** 12 tiras de 8 pozos separables. Los pozos están recubiertas con anti-progesterona IgG, empacados en una bolsa de papel de aluminio resellable.
- **Solución de parada:** 1 vial con 15 ml de ácido sulfúrico 0,15 mol/l (evitar cualquier contacto con la piel).
- **Conjugado Progesterona-HRP:** 1 vial contiene 22 ml de progesterona marcada con peroxidasa de rábano.
- **Solución de sustrato TMB:** 1 vial con 15 ml de 3, 3', 5, 5'-tetrametilbencidina (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-TMB 0,26 g/l) (evitar cualquier contacto con la piel).
- **Solución de lavado 10x conc.:** 1 vial con 50 ml en concentración 10x de solución de buffer de fosfato 0.2M Proclin <0.0015%
- **Control de Progesterona:** 1 vial con 1 ml de una solución específica para el lote de control. La concentración se indica en la etiqueta de la botella
- **Estándares de Progesterona:** 5 botellas, de 1 ml cada una
  - Estándar 0: 0 ng/ml
  - Estándar 1: 0.2 ng/ml
  - Estándar 2: 1.0 ng/ml
  - Estándar 3: 8.0 ng/ml
  - Estándar 4: 40.0 ng/ml

## 4.2. Materiales suministrados

- 1 Soporte para tiras
- 1 Lámina sellante
- 1 Protocolo de procesamiento
- 1 Plan de distribución e identificación

## 4.3. Materiales y equipos necesarios

- Lector de ELISA equipado para medir absorbancia a 450 nm, 620-630 nm
- Equipo manual o automático para el lavado de los pozos
- Pipetas para agregar volúmenes de entre 10 y 1.000 µl
- Agua destilada
- Temporizador
- 

## 5. ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

---

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta cuando se almacenan a 2...8 °C en oscuridad.

## 6. PREPARACION DE LOS REACTIVOS

---

*¡Es muy importante tener todos los reactivos, muestras y patrones a temperatura ambiente (22...28 °C) durante al menos 30 minutos antes de iniciar la ejecución de la prueba! ¡Al final del ensayo inmediatamente poner todos los reactivos a 2 – 8° C para evitar largos periodos a temperatura ambiente !*

### 6.1. Tiras recubiertas rompibles

Las tiras vienen listas para ser usadas y se rompen para separar los pozos. Están recubiertas con anticuerpos IgG anti-progesterona. Se deben conservar a una temperatura de entre 2...8 °C. Abra la bolsa sólo cuando ésta se encuentre a temperatura ambiente. *Inmediatamente después de retirar las tiras que va a utilizar, asegúrese de guardar las tiras que no van a ser usadas dentro de la bolsa de aluminio resellable junto con el desecante suministrado y almacenarla a una temperatura entre 2...8 °C; las tiras son estables hasta la fecha de caducidad.*

### 6.2. Conjugado Progesterona-HRP

La solución de conjugado de Progesterona HRP está lista para ser usada.

### 6.3. Estándares de Progesterona

Los estándares están listos para ser usados, antes de utilizar deje 5 minutos en un mezclador. Después de abierto es estable por 6 meses almacenado de 2 a 8 °C

### 6.4. Solución de sustrato TMB

El frasco contiene 15 ml de un sistema de tetrametilbencidina/peróxido de hidrógeno. El reactivo está listo para ser usado y debe ser almacenado a 2...8 °C en oscuridad. La solución debe estar incolora o puede tener un ligero tinte azul. Si el sustrato se torna azul, esto indica que puede haberse contaminado y por lo tanto debe desecharse.

### 6.5. Solución de parada

El frasco contiene 15 ml de solución de ácido sulfúrico 0,15 M (R 36/38, S 26). Esta solución está lista para ser usada y debe ser almacenada a 2...8 °C.

### 6.6. Solución de lavado

Diluir la solución de lavado concentrada con agua destilada o desionizada hasta un volumen final de 500ml antes de uso. Para volúmenes más pequeños, asegúrese de respetar la relación de 1:10. La solución de lavado diluida es estable durante 30 días almacenado a 2...8 °C. En la solución de lavado concentrada, es posible observar la presencia de cristales, en este caso mantener la mezcla a temperatura ambiente hasta la completa disolución de los cristales, para una mayor precisión diluir todo el frasco de solución de lavado concentrado a 500 ml teniendo especial cuidado en la transferencia de los cristales, luego mezclar hasta que los cristales se hayan disuelto completamente.

### 6.7. Control de Progesterona

El vial contiene 1 ml de una solución de control específica para el lote. La concentración se indica en la etiqueta.

## 7. RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

---

La determinación de progesterona se puede realizar en el plasma, así como en el suero. Almacenar las muestras a -20°C si la determinación no se realiza en el mismo día de la toma de muestras. Si las muestras son almacenadas a -20°C, mezclar muy bien las muestras al descongelarlas antes de realizar la prueba. Evite congelar y descongelar repetidamente.

## 8. PROCEDIMIENTO

---

### 8.1. Preparación para la prueba

Por favor, lea detenidamente el protocolo de la prueba antes de realizar el ensayo. La confiabilidad de los resultados depende del seguimiento estricto del protocolo de la prueba tal cual se describe en el inserto. Antes de comenzar el ensayo, se debe establecer cuidadosamente la distribución e identificación de las muestras y los estándares en la hoja Plan de distribución e identificación suministrada con el kit. Seleccione el número necesario de tiras de microtitulación o pozos e insértelos en el soporte. Por favor asigne por lo menos:

1 pozo (por ejemplo, A1)	para el blanco
2 pozos (por ejemplo, B1+C1)	para el estándar 0
2 pozos (por ejemplo, D1+E1)	para el estándar 1
2 pozos (por ejemplo, F1+G1)	para el estándar 2
2 pozos (por ejemplo, H1+A2)	para el estándar 3
2 pozos (por ejemplo, B2+C2)	para el estándar 4
2 pozos (por ejemplo, D2+E2)	para control

*Se recomienda determinar los estándares y muestras por duplicado.*

Realice todos los pasos del ensayo en el orden indicado y sin retrasos apreciables entre los pasos.

Debe usar una punta desechable limpia para la dosificación de cada estándar y cada muestra del paciente.

1. Agregue 20 µl de estándares, controles y muestras en sus respectivos pozos
2. Agregue 200 µl de conjugado Progesterona-HRP a cada pozo. Deje el pozo A1 libre para el blanco del sustrato.
3. Cubra los pozos con la lámina sellante incluida en el paquete.
4. **Incube durante 1 hora a 37°C**
5. Cuando se complete el tiempo de incubación, retire la lámina sellante, aspire el contenido de los pozos y lave cada pozo tres veces con 300 µl de solución de lavado diluida. Evite desbordamientos entre los pozos de reacción.

**Nota importante:** Agite suavemente la placa durante 5 segundos en cada paso del lavado. Después del último lavado asegúrese haber eliminado completamente la solución de lavado de los pozos, invierta la placa y golpéea repetidas veces contra una servilleta de papel absorbente.

**Lavados automático:** Si está utilizando una lavadora automática, hacer 5 lavados.

*Nota: ¡El lavado es crítico! Un lavado insuficiente resulta en una mala precisión y valores de absorbancia falsamente elevados.*

6. Agregue 100 µl de solución de sustrato TMB en todos los pozos.
7. **Incube durante exactamente 15 minutos a temperatura ambiente (22...28 °C) en oscuridad.**
8. Agregue 100 µl de solución de parada en todos los pozos en el mismo orden y a la misma velocidad que agregó la solución de sustrato TMB. Agite la microplaca.  
*Cualquier color azul desarrollado durante la incubación se convertirá en amarillo.*
9. Mida la absorbancia de la muestra a 450 nm frente una segunda lectura de referencia a 620-630 nm o frente al blanco entre 5 minutos.

### 8.2. Lectura

Ajuste el lector de placas de micropozos de ELISA a cero usando el blanco de sustrato del pozo A1.

*Si - por razones técnicas - el lector de ELISA no se puede ajustar a cero con el blanco del sustrato en el pozo A1, restar el valor de absorbancia del pocillo A1 de todos los valores de absorbancia otras medidas con el fin de obtener resultados fiables!*

Mida la absorbancia de todos los pozos a **450 nm** y registre los valores de absorbancia para cada estándar y muestra de paciente indicado en el plan de distribución e identificación.

Cuando sea necesario, calcule la **absorbancia media** de los duplicados.

## 9. RESULTADOS

---

### 9.1. Cálculo de los resultados

Calcule la absorbancia media para cada punto de la curva estándar y cada muestra. Grafique el valor medio de absorbancia de los estándares versus la concentración. Dibuje la curva que mejor se ajuste a los puntos trazados (Ej.: Logística de cuatro parámetros). Interpole los valores de las muestras en la curva estándar para obtener los valores correspondientes para las concentraciones expresadas en ng/ml.

## 9.2. Valores de referencia

El siguiente valor de progesterona en suero o plasma debe ser considerado como una guía:

Hombres	<0.1 ng/ml	
Mujeres	Fase Folicular	0,1-1,4 ng/ml
	Fase media lutea	4.0-25.0 ng/ml
	Menopausia	<1.0
	Embarazo	week ng/ml
	18-21	53-76
	22-25	60-86
	26-29	71-133
	30-33	86-142
	34-37	104-175
	38-41	117-187

Es importante señalar que la determinación de un rango de valores esperados en un método dado para una población "normal" depende de muchos factores, tales como la especificidad y sensibilidad del método en uso, y la población en estudio. Por lo tanto, cada laboratorio debe considerar el intervalo especificado por el fabricante como una guía general y producir su propio rango de valores calculados en base al estadístico obtenido por el laboratorio, donde reside la población local.

## 10. CONTROL DE CALIDAD

---

Cada laboratorio debe evaluar sus controles que correspondan a niveles normal, alto y bajo de la progesterona para supervisar el desempeño del ensayo. Estos controles deben ser tratados como muestras desconocidas y se deben determinar sus valores cada vez que se realice el ensayo. Se deben llevar gráficas de éstos controles de calidad para hacerle seguimiento al desempeño de los reactivos. Se deben emplear los métodos estadísticos pertinentes para verificar las tendencias. Cada laboratorio debe establecer los límites aceptables de desempeño para el ensayo. Otros parámetros que se deben controlar son los interceptos al 80, 50 y 20% de la curva estándar para evaluar la reproducibilidad intercorrida. Además, la absorción máxima debe ser consistente con la experiencia del laboratorio. Una desviación significativa del desempeño establecido puede indicar un cambio en las condiciones experimentales o la degradación de los reactivos. Deben usarse reactivos frescos para determinar la razón de las variaciones.

## 11. CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPEÑO

---

### 11.1. Precisión

#### Variación intraensayo

La variación intracorrida fue determinada por mediciones repetidas (20x) de tres sueros control diferentes en un mismo ensayo. La variación intracorrida del ensayo es  $\leq 4\%$ .

#### Variación interensayo

La variación intercorrida fue determinada por mediciones repetidas (10x) de tres sueros control diferentes con lotes distintos.

La variabilidad interensayo es  $\leq 9.3\%$ .

### 11.2. Reacciones Cruzadas

La reacción cruzada de los anticuerpos fue calcula para el 50% de acuerdo con Abraham y es la siguiente:

Progesterona	100%
Testosterona	0.37%
17 OH Progesterona	0.29%
17 $\beta$ Estradiol	0.0013%
Estrona	0.00053%
Estriol	< 0.0001%
Cortisol	< 0.0001%

### 11.3. Sensibilidad Analítica

La concentración detectable más baja de Progesterona que se puede distinguir del estándar 0 es 0,05 ng/ml con un límite de confianza del 95%.

### 11.4. Exactitud

La recuperación de 1.0 – 2.0 – 4.0 – 8.0 ng/ml de Progesterona añadidos a una muestra resulto en un valor medio ( $\pm$  DE) de 100,88%  $\pm$  8.29% con respecto a la concentración original.

## 11.5. Comparación de Métodos

La progesterona de NovaTec por ELISA, fue comparada con la Progesterona de Adaltis por EIAgen. Se analizaron 31 muestras de suero de acuerdo a los procedimientos de cada uno de los kits. La curva de regresión lineal se calculó:

Progesterona Novatec=0.97\*Progesterona Adaltis + 0.04

$r^2 = 0.887$

## 12. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

---

- En cumplimiento con el Artículo 1, Párrafo 2b de la Directiva 98/79/CE del Parlamento Europea sobre el uso de dispositivos médicos para diagnóstico in vitro, es responsabilidad del fabricante asegurar la idoneidad, desempeño y seguridad del producto. Por lo tanto, el procedimiento de prueba, la información, precauciones y advertencias contenidas en las instrucciones de uso deben ser seguidas estrictamente. El uso de los kits con analizadores y equipos similares debe ser validado. No está autorizado realizar ningún cambio en el diseño, composición y procedimiento del ensayo, así como ningún uso en combinación con otros productos no aprobados por el fabricante; el usuario es responsable de tales cambios. El fabricante no se hace responsable por resultados falsos o por cualquier incidente causado por esta razón. El fabricante no se responsabiliza por los resultados obtenidos mediante el análisis visual de las muestras de los pacientes.
- Sólo para uso en diagnóstico in vitro.
- Todos los componentes de origen humano utilizados para la producción de estos reactivos han sido examinados para determinar la presencia de anticuerpos anti-VIH, anticuerpos anti-HCV y anticuerpos anti-HBsAg y se ha determinado que no son reactivos. Sin embargo, todo el material debe ser considerado y tratado como potencialmente infeccioso.
- No intercambiar reactivos o tiras de diferentes lotes de producción.
- No se deben utilizar reactivos de otros fabricantes en combinación con los reactivos de este kit.
- No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Use sólo puntas para micropipeta, dispensadores y material de laboratorio limpio.
- No intercambie las tapas de los viales. Esto evita la contaminación cruzada.
- Cierre los viales de los reactivos con fuerza inmediatamente después de usarlos para evitar la evaporación y contaminación microbiana.
- Después de abrir el kit por primera vez y almacenarlo, verifique que los viales del conjugado y los estándares no presenten contaminación microbiana antes de continuar usándolo.
- Para prevenir la contaminación cruzada y la obtención de resultados falsamente elevados, pipeteo las muestras de los pacientes y dispense el conjugado con precisión hacia el fondo de los pozos evitando que se produzcan salpicaduras.
- La prueba ELISA es una metodología para personal calificado que esté familiarizado con buenas prácticas de laboratorio.
- La máxima precisión es necesaria para la dispensación de los reactivos.
- El sustrato de TMB contiene un irritante, que puede ser nocivo si es inhalado, ingerido o absorbido por la piel. Para evitar lesiones, evite la inhalación, ingestión o contacto con la piel y los ojos.
- Evitar la exposición del sustrato TMB a la luz solar directa, metales u oxidantes.
- La solución de parada consiste en una solución de ácido sulfúrico diluido. El ácido sulfúrico es venenoso y corrosivo y se puede tóxico si se ingiere. Para evitar quemaduras, evitar contacto con la piel y los ojos.
- Para valores superiores, por ejemplo en el embarazo, diluir la muestra y, considerando el factor de dilución en el cálculo del resultado.
- El tratamiento del paciente con cortisona, esteroides naturales o sintéticos pueden afectar la determinación de progesterona.
- Además de la solución de sustrato TMB inicia una reacción cinética, que es terminada por la adición de la solución de parada. Por lo tanto, el sustrato TMB y la solución de parada debe ser añadido en la misma secuencia para eliminar cualquier desviación de tiempo durante la reacción.
- Tenga en cuenta las directrices del control de calidad en los laboratorios médicos para los controles de ensayo y / o combinados sueros para determinar su desempeño.
- Muestras con contaminación microbiana no debe ser utilizado en el ensayo. Muestras altamente hemolizadas o lipémicas
- Tampoco deben ser utilizados lectores de la placa miden verticalmente. No toque el fondo de los pozos.
- Es importante que el tiempo de reacción en cada pozo se mantiene constante para obtener resultados reproducibles. El Pipeteo de las muestras no debe prolongarse más de diez minutos para evitar la deriva del análisis. Si hay más de 10 minutos son necesarios, siga el mismo orden de dispensación. Si más de una placa se utiliza, se recomienda repetir la curva dosis-respuesta en cada placa.
- La eliminación de líquidos incompleta o inexacta de los pozos podría influir en la precisión del ensayo y / o aumentar el background. Para mejorar el rendimiento del kit en los sistemas automatizados de ELISA, se recomienda aumentar el número de lavados.
- Algunos reactivos contienen pequeñas cantidades de Proclin 300® como conservante. Evite el contacto con la piel o mucosa.
- Este método permite la determinación de progesterona de 0,2 ng/ml a 40 ng/ml.



### **12.1. CONSIDERACIONES PARA EL DESCARTE**

Los residuos de productos y preparaciones químicos generalmente son considerados como residuos peligrosos. La eliminación de éste tipo de residuos está regulada por leyes y regulaciones nacionales y regionales. Póngase en contacto con las autoridades locales o empresas de manejo de residuos para que lo asesoren sobre cómo eliminar los residuos peligrosos.

### **13. INFORMACIÓN PARA PEDIDOS**

---

Prod. No.:                      DNOV006                      Progesterone (96 Determinations)

## LITERATURE/ BIBLIOGRAPHIE/ BIBLIOGRAFÍA

---

Wisdom G.B. (1976) Clin. Chem. 22 (8), 1243 – 1255.

De Villa G.O. et al. (1972) J. Clin. Endoc. Metab. 35, 458.

Joyce,B.G. et al. Steroids 29, no 6, 761, (1977)

Winkel P. et al. Clin. Chem. 22 (4), 422 (1976)

Rajkowski K.N et al. Steroids 29, no 5 (1977)

<b>Symbols Key/ Symbolschlüssel/ Explication des symboles / Legenda / Símbolos/ Tabela de símbolos</b>	
	Manufactured by / Hergestellt von/ Fabriqué par/ Prodotto da/ Fabricado por / Fabricado por
<b>IVD</b>	In Vitro Diagnostic Medical Device/ In Vitro Diagnosticum/ Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> / Diagnostico <i>in vitro</i> / Producto para diagnóstico In vitro / Dispositivo Médico para Diagnóstico In Vitro
<b>LOT</b>	Lot Number/ Chargenbezeichnung/ Numéro de lot/ Lotto/ Número de lote / Número de lote
	Expiration Date/ Verfallsdatum/ Date de péremption/ Scadenza/ Fecha de caducidad / Data de Validade
	Storage Temperature/ Lagertemperatur/ Température de conservation/ Temperatura di conservazione / Temperatura de almacenamiento / Temperatura de Armazenamento
	Keep away from sunlight / Vor direkter Sonneneinstrahlung schützen / Protéger de rayonnement solaire / Mantener alejado de la luz solar
<b>CE</b>	CE Mark/ CE-Zeichen/ Marquage CE / Marchio CE/ Marca CE / Marca CE
<b>REF</b>	Catalogue Number/ Katalog Nummer/ Référence du catalogue/ Numero di codice/ Número de Catálogo / Número de Catálogo
	Consult Instructions for Use/ Gebrauchsanweisung beachten/ Consulter la notice d'utilisation/ Consultare le istruzioni/ Consulte las Instrucciones de Uso / Consultar as Instruções de Utilização
<b>MTP</b>	Microplate/ Mikrotiterplatte/ Microplaque/ Micropiastra/ Microplaca / Microplaca
<b>CONJ</b>	Conjugate/ Konjugat/ Conjugué/ Coniugato/ Conjugado / Conjugado
<b>CONTROL</b>	Control/ Kontrolle/ contrôle / controllo / control / controle/ controllo
<b>CAL</b>	Calibrator resp. Standard/ Kalibrator bzw. Standard/ Calibrateur resp Etalon / Calibratore ossia Standard / Calibrador o bien Estándar
<b>SOLN STOP</b>	Stop solution/ Stopplösung/ Solution d'arrêt/Soluzione bloccante / Solução de paragem
<b>SUB TMB</b>	TMB Substrate solution/ TMB-Substratlösung/ Substrat TMB/ soluzione substrato TMB/ solución substrato TMB / Solução substrato TMB
<b>WASH BUF 10x</b>	Washing solution 10x concentrated/ Waschlösung 10x konzentriert/ Solution de lavage concentré 10 x/ soluzione di lavaggio concentrazione x10/ solución de lavado concentrado x10 / Solução de lavagem concentrada 10x
	Contains sufficient for "n" tests/ Ausreichend für "n" Tests/ Contenu suffisant pour "n" tests/ Contenuto sufficiente per "n" saggi/ Contenido suficiente para "n" tests / Conteúdo suficiente para "n" testes

# SCHEME OF THE ASSAY

Progesterone

## Test Preparation

Prepare reagents and samples as described.  
Establish the distribution and identification plan for all specimens and controls on the result sheet supplied in the kit.  
Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.

## Assay Procedure

	Substrate blank	Standard 1 – 4	Control	Sample
Standard 1 – 4	-	20 µl	-	-
Control	-	-	20 µl	-
Sample	-	-	-	20 µl
Conjugate	-	200 µl	200 µl	200 µl
Cover wells with foil supplied in the kit <b>Incubate for 1 hour at 37 °C</b> Wash each well three times with 300 µl diluted wash solution				
TMB Substrate	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
<b>Incubate for exactly 15 min at room temperature (22...28°C) in the dark</b>				
Stop Solution	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Shake the microplate gently Photometric measurement at 450 nm, 620-630 nm				

### **NovaTec Immundiagnostica GmbH Technologie & Waldpark**

Waldstr. 23 A6  
D-63128 Dietzenbach, Germany

Tel.: +49 (0) 6074-48760 Fax: +49 (0) 6074-487629  
Email : [info@NovaTec-ID.com](mailto:info@NovaTec-ID.com)  
Internet: [www.NovaTec-ID.com](http://www.NovaTec-ID.com)

DNOV006-engl,es,fr-29052015-CS