

# PATHOZYME® PROGESTERONE Ref OD487

Test ImunoEnzimatic (EIA) pentru determinarea cantitativă a Progesteronului în ser sau plasmă.

Depozitați la 2°C - 8°C. NU CONGELAȚI.

Doar pentru diagnostic in-vitro.

## INTRODUCERE

Progesteronul este un steroid C21 care este sintetizat atât din colesterolul tisular cât și din cel circulant. Colesterolul este transformat în pregnenolon care este apoi convertit printr-o reacție combinată dehidrogenază și izomerază în progesteron. Principalele locuri de producție sunt suprarenalele și ovarele, iar în cursul sarcinii placenta. Mare parte din acest steroid este metabolizat în ficat în pregnanediol și conjugat cu un glucuronid înainte de a fi excretat de rinichi.

Progesteronul induce o mare varietate de efecte la nivelul organelor țintă. Principalul rol al progesteronului se manifestă la nivelul organelor reproductive. La bărbați, progesteronul este un intermediar obligatoriu pentru producerea corticosteroidilor și hormonilor androgeni. La femei, progesteronul rămâne relativ constant în timpul fazei foliculare a ciclului menstrual. Concentrația crește apoi rapid după ovulație și rămâne crescută timp de 4-6 zile și scade apoi la nivelul inițial la 24 de ore înainte de debutul menstruației. În sarcină, producția de progesteron placentar crește constant până ajunge la nivelul de 10-20 de ori mai mare decât valoarea maximă din cursul fazei luteale.

Măsurarea progesteronului este folosită pentru a determina ovulația dar și pentru a caracteriza defectele de fază luteală. Monitorizarea terapiei cu progesteron și evaluarea stadiului timpuriu al sarcinii reprezintă alte modalități de utilizare a testului de determinare a progesteronului.

## UTILIZARE

**PATHOZYME PROGESTERONE** este un test ImunoEnzimatic (EIA) pentru determinarea cantitativă a Progesteronului total în serul sau plasma umane.

A fi folosit doar de personalul medical.

## PRINCIPIUL TESTULUI

**PATHOZYME PROGESTERONE** se bazează pe principiul legării competitive dintre Progesteronul din proba de testat și Conjugatul Progesteron-HRP pentru o cantitate constantă de anticorpi de iepure anti-Progesteron. În cursul reacției, godeurile de care sunt fixați IgG de capră anti-iepure sunt incubate cu Standarde, Controlale, seruri, Conjugat Progesteron-HRP și reactiv anticorpi iepure anti-Progesteron. În timpul incubății, o cantitate fixă de Progesteron marcat cu HRP intră în competiție cu Progesteronul endogen din standard și probe sau serul pentru controlul calității pentru un număr fix de locuri de legare de pe anticorpu specific anti-Progesteron. În acest fel, cantitatea de Conjugat Progesteron peroxidază legat imunologic de godeuri, scade progresiv pe măsură ce concentrația de Progesteron din probă crește.

Conjugatul Progesteron peroxidază nelegat este apoi îndepărtat iar godeurile sunt spălate. Se adaugă apoi Substratul (TMB) ceea ce duce la apariția culorii albastre. Dezvoltarea culorii este oprită prin adăugarea de soluție de stopare, iar absorbanta este măsurată spectrofotometric la 450nm. Intensitatea culorii formate este proporțională cu cantitatea de enzimă prezentă și este invers proporțională cu cantitatea de Progesteron nemarcat din probă. Se obține o curbă standard plecând de la concentrația standardului în raport cu absorbanta. Concentrația de Progesteron a probelor și controlalelor rulate concomitent cu standardele poate fi calculată din curba standard.

Acest test a fost calibrat cu standarde interne. Nu există standarde internaționale pentru acest test.

## CONȚINUT

Ref  
OD487



Microtitre Plate		12 x 8 godeuri x 1	
Godeuri detașabile "invelite" cu anticorpi specifici, ambalate într-o pungă de folie împreună cu un desicant.			
Cal	A	0 ng/ml	0.5 ml
Standard Referință: Ser uman fără Progesteron. Gata de lucru. (Incolor)			
Cal	B	0.5 ng/ml	0.5 ml
Standard Referință: Progesteron diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)			
Cal	C	3.0 ng/ml	0.5 ml
Standard Referință: Progesteron diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)			
Cal	D	10 ng/ml	0.5 ml
Standard Referință: Progesteron diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)			
Cal	E	25 ng/ml	0.5 ml
Standard Referință: Progesteron diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)			
Cal	F	50 ng/ml	0.5 ml
Standard Referință: Progesteron diluat în ser uman. Gata de lucru. (Incolor)			
Control	1	Nivel marcat pe flacon	0.5 ml
Progesteron cu nivel cunoscut, diluat în ser uman. Gata de lucru (Incolor)			
Control	2	Nivel marcat pe flacon	0.5 ml
Progesteron cu nivel cunoscut, diluat în ser uman. Gata de lucru (Incolor)			
Ab	REAG	Progesterone	7 ml
Reactiv iepure anti Progesteron. Gata de lucru (Roz)			
Conj	11X		1.3 ml
Progesteron conjugat cu peroxidază hrean. Gata de lucru. (Incolor)			
DIL	CONJ		13 ml
Tampon fosfat conținând proteine de stabilizare. Gata de lucru. (albastru)			
Subs	TMB		11 ml
Soluție Substrat: 3,3', 5,5' Tetrametil Benzidină în tampon citrat. Gata de lucru. (Incolor)			

Soln	Stop	HCl	1M	11ml
------	------	-----	----	------

Soluție Stopare: Acid clorhidric diluat în apă purificată.  
Gata de lucru. (Incolor)

Broșură instrucțiuni și Fișa de înregistrare date EIA 1 + 1

## MATERIALE NECESARE DAR CARE NU SUNT PREZENTE ÎN KIT

Micropipete: 100µl, 200µl, 1000µl și 5000µl  
Vîrfuri de pipetă de unică folosință  
Hirtie absorbantă  
Cititor microplăci cu filtru de 450nm.  
Hirtie pentru grafic (milimetrică)  
Sticlărie de laborator foarte curată.

## PRECAUȚIUNI

**PATHOZYME PROGESTERONE** conține materiale de origine umană care au fost testate și confirmate negative prin proceduri aprobate de FDA pentru anticorpi HCV, HIV 1 și 2 și pentru HbsAg, la nivel de donor unic. Deoarece nici un test nu poate oferi o garanție completă că produsele derivate din surse umane nu vor transmite agenți infecțioși, se recomandă ca reactivii din acest kit să fie manipulați cu grijă și atenția corespunzătoare atât în timpul utilizării cit și sunt deșeurii. Nu ingerați.

Reactivii **PATHOZYME PROGESTERONE** nu conțin substanțe periculoase așa cum sunt definite de legislația Chimică a Marii Britanii (Informații și Ambalare substanțe periculoase pentru Furnizare). Toți reactivii trebuie totuși tratați ca substanțe cu potențial risc biologic atât cînd sunt folosite cit și cînd sunt deșeurii. Rezolvarea finală a deșeurilor trebuie făcută în conformitate cu legislația locală.

Soluția de Stopare **PATHOZYME PROGESTERONE** este acid clorhidric diluat și este deci corozivă. Manipulați cu grijă. În caz de contact cu tegumentul spălați cu grijă cu apă.

Reactivii **PATHOZYME PROGESTERONE** conțin Proclin™ 300\* în concentrație de 1% ca și conservant. Este toxică atunci cînd este ingerată. În caz de contact, spălați bine cu apă de la robinet și consultați un medic.  
\* Proclin™ 300 este o marcă înregistrată a ROHM & HAAS Limited.

## DEPOZITARE

Reactivii trebuie depozitați la temperaturi de 2°C - 8°C.

Data expirării este ultima zi a lunii menționate pe eticheta recipientului și pe ambalajul kit-ului. Performanța kit-ului va fi cea specificată pînă la data expirării menționată așa cum este determinată de la data producerii și după cum este menționat pe kit și componentele acestuia. Nu folosiți reactivii după data expirării.

Evitați expunerea reactivilor la temperatură excesivă. Nu expuneți reactivii la lumina directă a soarelui.

NU CONGELAȚI NICI UN REACTIV (cu excepția depozitării standardelor) deoarece acesta va fi iremediabil alterat.

## RECOLTAREA ȘI PREGĂTIREA PROBEI

Ser:

Recoltați o probă de sînge venos de la pacient și lăsați să se formeze și retracte cheagul. Centrifugați proba de sînge coagulat și colectați serul limpede. Este nevoie de ser proaspăt.

Plasmă:

Recoltați o probă de sînge venos într-un recipient de recoltare ce conține EDTA. Centrifugați proba și recoltați plasma limpede. Este nevoie de probe de plasmă proaspete.

Nu folosiți pentru testare ser hemolizat, contaminat sau lipemic deoarece aceasta va influența nedorit rezultatele.

Serul poate fi depozitat la 2°C - 8°C timp de 48 de ore înainte de testare. Dacă este nevoie de depozitare pe durată mai lungă, puteți păstra serul la -20°C pe o durată de 1 an. Probele decongelate trebuie amestecate bine înainte de a fi utilizate.

Nu folosiți ca și conservant Azida sodică deoarece aceasta va inhiba sistemul enzimatic Peroxidază.

Nu congelați-decongelați în mod repetat probele - veți obține rezultate false.

## PREGĂTIREA REACTIVILOR

Toți reactivii trebuie lăsați să ajungă la temperatura camerei (20°C-25°C) și amestecați ușor pentru a resuspenda latex-ul înainte de utilizare. Evitați formarea spumei.

Soluția de Lucru: Diluați conjugatul concentrat folosind o parte de conjugat concentrat la 10 părți de diluent conjugat (diluije 1/11). Pentru fiecare godeu sunt necesari 100µl. Reactivul diluat este stabil la 2°C - 8°C timp de o lună.

## LIMITELE UTILIZĂRII

Folosirea altor tipuri de probe, altele decît serul sau plasma EDTA nu a fost validată pentru acest test. Nu există protocol de reutilizare pentru acest produs.

Atunci cînd faceți interpretarea testului este recomandat să luați în considerare toate datele clinice. Diagnosticul nu trebuie să fie stabilit doar pe baza rezultatelor unui singur test clinic.

## PROCEDURA DE TESTARE

- Aduceți toate componentele kit-ului și serul de testat la temperatura camerei (20°C-25°C) înainte de a începe testarea.
- Se recomandă rularea unui set de standarde la fiecare procesare de probe. Fixați numărul dorit de godeuri în stativ. Înregistrați poziția standardelor și a serului de testat pe Fișa de Înregistrare a Datelor EIA.
- Stripurile nefolosite trebuie resigilate în punga de folie conținând desicant și plasate apoi la 2°C - 8°C.
- Pipetați 25μl de Standarde, Ser de testat și Controale în godeurile stabilite.
- Pipetați 100μl de Conjugat Progesteron-HRP concentrație de lucru în fiecare godeu.
- Pipetați 50μl de reactiv iepure anti-estradiol în fiecare godeu. Amestecați viguros timp de 30 de secunde. Este foarte important să amestecați complet.
- Incubați la temperatura camerei (20°C-25°C) timp de 90 de minute.
- La sfârșitul perioadei de incubare, aruncați conținutul godeurilor răsturnând brusc conținutul plăcii cu partea superioară în jos deasupra unui container de deșeuri cu risc biologic și apoi loviți placa (cu partea superioară în jos) pe o bucată de hirtie absorbantă. Aveți grijă ca în recipientul pentru deșeuri să se afle un dezinfectant corespunzător.
- Spălare Manuală: Umpleți godeurile cu minimum 300μl de apă distilată pentru fiecare godeu. Întoarceți brusc placa deasupra recipientului de deșeuri biologice. Loviți placa de hirtie absorbantă. Spălați godeurile goale de 5 ori cu apă distilată.
- Loviți din nou placa (cu partea superioară în jos) de o bucată de hirtie absorbantă pentru a îndepărta toate picăturile de apă reziduală.
- Spălare Automată: controlați ca 300μl de apă distilată să fie pipetați în fiecare godeu și ca în recipientul cu deșeuri să fie adăugat un dezinfectant potrivit. Spălați godeurile de 5 ori. După spălare îndepărtați excesul de lichid lovind placa inversată de o hirtie absorbantă.
- Pipetați 100μl de Soluție Substrat în fiecare godeu. Amestecați ușor timp de 5 secunde.
- Incubați la întuneric și la temperatura camerei (20°C-25°C) timp de 20 de minute.
- Opriți reacția adăugând 100μl de Soluție Stopare în fiecare godeu.
- Amestecați ușor timp de 30 de secunde. Este important să vă asigurați că virarea culorii de la albastru la galben are loc imediat.
- Citiți imediat densitatea optică (nu mai târziu de 10 minute) folosind un cititor de microplăci cu un filtru de 450nm.

## EVITAREA ERORILOR

Poate fi folosit de personalul cu minimă pregătire bazică de laborator.

Nu folosiți componente ale kit-ului care sunt deteriorate sau contaminate.

Folosiți un vîrf de pipetă de unică folosință pentru fiecare probă pentru a preveni contaminarea încrucișată.

Deși nu este necesară se recomandă rularea probelor și standardelor în duplicat.

Probele și standardele trebuie rulate simultan pentru a avea condiții de testare similare.

Se recomandă să nu folosiți mai mult de 32 de godeuri odată atunci cînd pipetați manual, deoarece pipetarea Standardelor și probelor trebuie să fie completă în decurs de 3 minute. Se poate folosi o placă completă de 96 de godeuri doar dacă este disponibilă pipetarea automată.

Puneți la loc capacul pe recipientele cu reactivi imediat după utilizare.

Evitați pipetarea repetată din reactivii de stoc, deoarece se poate produce contaminare.

Nu amestecați reactivii sau stripurile provenind de la kit-uri diferite. Atunci cînd pipetați aveți grijă să nu atingeți suprafața godeului. Nu pipetați reactivul pe partea laterală a godeului. Înainte de începutul testării, lăsați reactivii să ajungă la temperatura camerei (20° - 25°C). Amestecați ușor toți reactivii cu mișcări blinde de rotație.

Odată testarea pornită, godeurile nu trebuie să se usuce în cursul derulării testului.

Nu contaminați Soluția Substrat deoarece kit-ul va deveni nefuncțional.

Controlați precizia și acuratețea echipamentului de laborator folosit în timpul procedurii pentru a asigura rezultate reproductibile.

Strip-urile nefolosite ar trebui re-sigilate în punga de folie care conține desicant și apoi depozitate la 2°C - 8°C.

## CALCULAREA REZULTATELOR

Calculați valoarea absorbantei medii ( $A_{550}$ ) pentru fiecare set de Standarde, Controale și Probe. Creați o curbă standard punct la punct făcînd un grafic cu absorbanta medie pentru fiecare Standard în funcție de concentrația în ng/ml punct la punct pe hirtie milimetrică liniar-liniară, cu valorile absorbantei pe axa Y și concentrațiile pe axa X. Folosiți valorile absorbantei medii pentru fiecare probă pentru a determina concentrația corespunzătoare de Progesteron în ng/ml plecînd de la curba standard. Dacă nivelurile controalelor sau ale probelor cu valori cunoscute nu dau rezultatele scontate, rezultatele testului trebuie considerate invalide. Dacă folosiți un pachet software alegeți o curbă de regresie quadratică care să se potrivească.

## VALORI PREDICȚIONATE ȘI SENSIBILITATE

Graficul produs de calibratorii trebuie să aibă o formă hiperbolică cu densitatea optică (DO) citită la 450 nm invers proporțională cu concentrația lor. DO a calibratorului A trebuie să fie mai mare de 1,5 iar DO a calibratorului F mai mică de 0,75 pentru ca rezultatele testului să fie valide.

Fiecare laborator trebuie să stabilească propriul domeniu de valori normale plecînd de la populația de pacienți. **PATHOZYME PROGESTERONE** a fost realizat pe probe selectate aleator dintr-o policlinică. Rezultatele acestor determinări sunt următoarele:

Bărbați	Adulți	0.13-0.97ng/ml
	Pre-pubertate (copii)	0.07-0.52g/ml
Femei	Faza foliculară	0.15-0.70ng/ml
	Faza luteală	2.00-25.0ng/ml
	Post menopauză	0.06-1.60ng/ml
	Sarcină	
	Primul Trimestru	10.3 - 44.0 ng/ml
	Al doilea Trimestru	19.5 - 82.5 ng/ml
Al treilea Trimestru	65.0 - 229.0 ng/ml	

## SENSIBILITATE

Cel mai mic nivel detectabil pentru Progesteron cu acest test este de aproximativ 0,0625ng/ml.

## SPECIFICITATE

Următoarele substanțe au fost controlate pentru reactivitate încrucișată. - Procentul indică reactivitatea încrucișată la înlocuire 50% comparat cu Progesteron.

În tabelul de mai jos sunt rezumate datele de reactivitate încrucișată pentru cîțiva steroizi endogeni și farmaceutici:

Steroid	Concentrația Progesteron Observată x 100	
	Concentrația Steroizi	
Progesterone	100%	
Androsterone	0.086%	
Corticosterone	0.74%	
Cortisone	0.11%	
Cholesterol	<0.08%	
Oestradiol	<0.01%	
Estrone	0.08%	
Estriol	<0.024%	
Prednisolone	0.075%	
Testosterone	0.1%	

## DATE DE EVALUARE

Rezultate calibrate cu competitori importanți și cu standarde interne. Coeficientul de variație al **PATHOZYME PROGESTERONE** este mai mic sau egal cu 10%.

La o evaluare dintre kit-ul **PATHOZYME PROGESTERONE** produs de Omega și Kit-ul BIOC produs de DRG pentru probe cuprinse între 0,35 ng/ml și 73,83 ng/ml au fost generate următoarele date.

Număr de probe	106
Coeficient de corelație	0,96
Pantă	1,16
Intercept	1,53
Medie Omega	18,0 ng/ml
Medie DRG	14,17 ng/ml

Între kit-uri s-a dovedit o bună corelație.

## BIBLIOGRAFIE

- Radwanska, E., Frankenberg, J., and Allen, E.**, Plasma Progesterone Levels in Normal and Abnormal Early Pregnancy, Fertility and Sterility **30**, 398-402 (1978).
- Autrer, M.B., and Benson, H.**, Progesterone: An Overview and Recent Advances, J. Par. Sci. **65**, 783-800 (1976).
- March, C.M., Goebelsmann, U., Nakamura, R.M., and Mischell, D.R.** Roles of Estradiol and Progesterone in Eliciting the Midcycle Luteinising Hormone and Follicle-Stimulating Hormone Surges. J. Clin. Endo. And Metab. **48**: 507-513, (1979).
- Ross, G.T., Van De Wiele, R.L., and Frantz, A.G.** The Ovaries and the Breasts in Textbook of Endocrinology, R.H. Williams ed. P355-407, W.B. Saunders, Phil. (1981).
- Chattoraj, S.C.**, Endocrine Function in Fundamentals of Clinical Chemistry, N.W. Tietz ed. p699-823, W.B. Saunders, Phil. Chap. 13 (1976).
- Shepard, M.K., and Fainstat, T.** Comparison of Serum Progesterone and Endometrial Biopsy for Confirmation of Ovulation and Evaluation of Luteal Function. Fertility and Sterility, **28**: 541; (1977).
- Johansson, E.D., and Johansson, L.E.** Progesterone Levels in Amniotic Fluid and Plasma from Women. I. Levels During Normal Pregnancy. Acta. Obstet. Gynaecol. Scand. **50**: 339; (1971).
- USA Centre for Disease Control/National Institute of Health Manual "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" 1984.

## GHID RAPID AL PROCEDURII DE TESTARE

- Pipetați 25μl de standarde, probe, controale.
- Adăugați 100μl Conjugat Progesteron HRP concentrație de lucru în fiecare godeu.
- Adăugați 50μl de anticorpi de iepure anti-Progesteron în fiecare godeu. Amestecați ușor timp de 30 de secunde.
- Incubați 90 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C)
- Anunțați conținutul godeurilor și spălați de 5 ori cu apă distilată.
- Adăugați 100μl de Soluție Substrat în fiecare godeu și amestecați ușor 5 secunde.
- Incubați la întuneric 20 de minute la temperatura camerei (20°C-25°C).
- Adăugați 100μl de Soluție Stopare în fiecare godeu și amestecați ușor 30 de secunde.
- Citiți imediat Densitatea Optică (în decurs de 10 minute) folosind un cititor de microplăci cu un filtru de 450nm.

8098 ISSUE 5 Revised March 2010 **ROMANIAN**  
© Omega Diagnostics Ltd., 2010



OMEGA DIAGNOSTICS LTD.  
Omega House, Hillfoots Business Village  
Alva FK12 5DQ, Scotland, United Kingdom  
odl@omegadiagnostics.com  
www.omegadiagnostics.com  
AN ISO 9001 AND ISO 13485 CERTIFIED COMPANY