



# **17 OH-PROGESTERONE ELISA**

***KAPD1292***

---

**LOT** : 120604/2



# 17- $\alpha$ -OH Progesterone-ELISA

en

KAPD1292

IN VITRO DIAGNOSTIC USE

DIAsource ImmunoAssays S.A. - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax : +32 10 84 99 91

## 1 INTRODUCTION

The **DIAsource 17- $\alpha$ -OH Progesterone Enzyme Immunoassay Kit** provides materials for the quantitative determination of 17- $\alpha$ -OH Progesterone in serum.

**This assay is intended for in vitro diagnostic use only.**

The steroid 17- $\alpha$ -Hydroxyprogesterone (17- $\alpha$ -OHP) is produced by both the adrenal cortex and gonads. Even though 17- $\alpha$ -OHP has relatively little progestational activity, it is of intense clinical interest because it is the immediate precursor to 11-desoxycortisol (Cpd-S). Because Cpd-S is produced by 21-hydroxylation of 17- $\alpha$ -OHP, measurement of 17- $\alpha$ -OHP is a useful indirect indicator of 21-hydroxylase activity. In congenital 21-hydroxylase deficiency, the most common variety of congenital adrenal hyperplasia (CAH), 17- $\alpha$ -OHP is secreted in abundant excess. It is moderately elevated in the 11- $\beta$ -hydroxylase deficiency as well. Measurement of 17- $\alpha$ -OHP is therefore valuable in the initial diagnosis of CAH.

### 1.1 CLINICAL PHYSIOLOGY

#### Adult non-pregnant women:

In adult non-pregnant women in the childbearing age group, 17- $\alpha$ -OHP concentrations vary over the menstrual cycle with luteal phase concentrations being higher than follicular phase concentrations. This is because 17- $\alpha$ -OHP is secreted in parallel with progesterone from maturing follicles or from the corpus luteum. There is also a diurnal variation of 17- $\alpha$ -OHP concentrations.

This rhythm is parallel with adrenal cortisol secretion such that maximum 17- $\alpha$ -OHP concentrations are measured in samples obtained between midnight and 8:00 am.

#### Adult males:

There is little information available on the systematic variability of 17- $\alpha$ -OHP concentration in adult males.

#### Pregnant women and newborn children:

The steroid 17- $\alpha$ -OHP is produced in large amounts by the fetus and the adrenals. It is secreted in abundance into both the fetal and maternal circulation. The maternal concentrations of 17- $\alpha$ -OHP increase very sharply after 32 weeks gestational age to about 4-fold above basal concentrations at term.

### 1.2 CLINICAL APPLICATIONS

#### Congenital adrenal hyperplasia:

The principal application of the 17- $\alpha$ -OHP Elisa is in the diagnosis of CAH in newborns with ambiguous genitalia and in virilized adolescent girls. Since 17- $\alpha$ -OHP is the immediate precursor to 11-desoxycortisol, basal 17- $\alpha$ -OHP concentrations are sharply elevated in patients with 21-hydroxylase deficiency and to a lesser degree in patients with 11-hydroxylase deficiency.

Because 17- $\alpha$ -OHP concentrations are so markedly elevated in newborns and adolescent girls afflicted with CAH, a single basal measurement is all that is normally required to make the diagnosis.

#### Late onset adrenal hyperplasia:

More recently, 17- $\alpha$ -OHP concentrations have been utilized in the evaluation of androgenized women where late onset 21-hydroxylase deficiency is suspected. This condition is clinically very subtle and since the presentation is the same as classical polycystic ovarian disease, basal plasma 17- $\alpha$ -OHP concentrations, unlike classical congenital adrenal hyperplasia, are normal. The diagnosis is made by administration of an ACTH stimulation test.

#### Other applications:

Measurement of 17- $\alpha$ -OHP concentrations is also utilized in evaluation of both men and women with acne vulgaris, male pattern baldness and in some subtle forms of infertility. Experiences with these applications are very limited.

## 2 PRINCIPLE OF THE TEST

The **DIAsource 17- $\alpha$ -OH Progesterone ELISA Kit** is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), based on the principle of competitive binding.

The microtiter wells are coated with a polyclonal antibody directed towards an antigenic site on the 17- $\alpha$ -OHP molecule. Endogenous 17- $\alpha$ -OHP of a patient sample competes with a 17- $\alpha$ -OHP-horseradish peroxidase conjugate for binding to the coated antibody. After incubation the unbound conjugate is washed off.

The amount of bound peroxidase conjugate is inversely proportional to the concentration of 17- $\alpha$ -OHP in the sample. After addition of the substrate solution, the intensity of colour developed is inversely proportional to the concentration of 17- $\alpha$ -OHP in the patient sample.

## 3 PRECAUTIONS

- This kit is for in vitro diagnostic use only. For professional use only.
- All reagents of this test kit which contain human serum or plasma have been tested and confirmed negative for HIV I/II, HBsAg and HCV by FDA approved procedures. All reagents, however, should be treated as potential biohazards in use and for disposal.
- Before starting the assay, read the instructions completely and carefully. Use the valid version of the package insert provided with the kit. Be sure that everything is understood.
- The microplate contains snap-off strips. Unused wells must be stored at 2 °C to 8 °C in the sealed foil pouch and used in the frame provided.
- Pipetting of samples and reagents must be done as quickly as possible and in the same sequence for each step.

- Use reservoirs only for single reagents. This especially applies to the substrate reservoirs. Using a reservoir for dispensing a substrate solution that had previously been used for the conjugate solution may turn solution colored. Do not pour reagents back into vials as reagent contamination may occur.
- Mix the contents of the microplate wells thoroughly to ensure good test results. Do not reuse microwells.
- Do not let wells dry during assay; add reagents immediately after completing the rinsing steps.
- Allow the reagents to reach room temperature (21-26°C) before starting the test. Temperature will affect the absorbance readings of the assay. However, values for the patient samples will not be affected.
- Never pipet by mouth and avoid contact of reagents and specimens with skin and mucous membranes.
- Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.
- Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents or specimens may give false results.
- Handling should be done in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guideline or regulation.
- Do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
- All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microtiterplate readers.
- Do not mix or use components from kits with different lot numbers. It is advised not to exchange wells of different plates even of the same lot. The kits may have been shipped or stored under different conditions and the binding characteristics of the plates may result slightly different.
- Avoid contact with *Stop Solution* containing 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. It may cause skin irritation and burns.
- Some reagents contain Proclin, BND and MIT as preservatives. In case of contact with eyes or skin, flush immediately with water.
- TMB substrate has an irritant effect on skin and mucosa. In case of possible contact, wash eyes with an abundant volume of water and skin with soap and abundant water. Wash contaminated objects before reusing them. If inhaled, take the person to open air.
- Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guideline or regulation.
- For information on hazardous substances included in the kit please refer to Material Safety Data Sheets. Material Safety Data Sheets for this product are available upon request directly from DIAsource ImmunoAssays S.A.

## 4 KIT COMPONENTS

### 4.1 Contents of the Kit

1. 

LUL
-----

 12x8 (break apart) strips, 96 wells  
Wells coated with Anti-17- $\alpha$ -OH Progesterone antibody (polyclonal)
2. 

CAL	N
-----	---

 N=1 to 6, Reference Calibrator Set, 6 vials, 1 ml each  
Contains non-mercury preservative  
See exact values on vial labels  
Conversion : ng/mL x 3.03 = nmol/L
3. 

CAL	0
-----	---

 Zero Calibrator, 1 vial, 1 ml  
Contains non-mercury preservative
4. 

CONTROL	N
---------	---

 2 vials, 1 mL each, ready to use;  
For control values and ranges please refer to vial label or QC-Datasheet  
Contains non-mercury preservative
5. 

Ag	HRP
----	-----

 1 vial, 25 ml, ready to use  
17- $\alpha$ -OH Progesterone conjugated to horseradish peroxidase  
Contains non-mercury preservative
6. 

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

 (Substrate Solution) 1 vial, 25ml, ready to use  
TMB
7. 

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

 1 vial, 14 ml  
contains 0.5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.
8. 

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

 (40x concentrated), 1 vial, 30 ml  
See "Preparation of Reagents"

**Note:** Additional *Calibrator 0* for sample dilution is available upon request.

### 4.2 Equipment and material required but not provided

- A microtiter plate calibrated reader (450±10 nm)
- Calibrated variable precision micropipettes.
- Absorbent paper
- Aqua dest.
- Semi-logarithmic graph paper

### 4.3 Storage and stability of the Kit

When stored at 2-8°C unopened reagents will retain reactivity until expiration date. Do not use reagents beyond this date. Opened reagents must be stored at 2-8°C. Microtiter wells must be stored at 2-8°C. Once the foil bag has been opened, care should be taken to close it tightly again. Opened kits retain activity for six weeks if stored as described above.

### 4.4 Preparation of Reagents

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

#### **Wash Solution**

Add deionized water to the 40 x concentrated Wash Solution.

Dilute 30 mL of concentrated Wash Solution with 1170 mL deionized water to a final volume of 1200 mL.

*The diluted Wash Solution is stable for 2 weeks at room temperature.*

#### 4.5 Disposal of the Kit

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

#### 4.6 Damaged Test Kits

In case of any severe damage to the test kit or components, DIAsource ImmunoAssays S.A. has to be informed in writing, at the latest, one week after receiving the kit. Severely damaged single components should not be used for a test run. They have to be stored until a final solution has been found. After this, they should be disposed according to the official regulations.

### 5 SPECIMEN

Serum can be used in this assay.

Do not use haemolytic, icteric or lipaemic specimens.

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

#### 5.1 Specimen Collection

##### Serum:

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

#### 5.2 Specimen Storage

Specimens should be capped and may be stored for up to 24 hours at 2-8°C prior to assaying.

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

#### 5.3 Specimen Dilution

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

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

##### Example:

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

### 6 TEST PROCEDURE

#### 6.1 General Remarks

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

#### 6.2 Assay Procedure

Each run must include a calibrator curve.

1. Secure the desired number of Microtiter wells in the holder.
2. Dispense **25 µL** of each *Calibrator*, *Control* and samples with new disposable tips into appropriate wells.
3. Incubate for **5 minutes** at room temperature
4. Dispense **200 µL Enzyme Conjugate** into each well.
5. Thoroughly mix for 10 seconds. It is important to have a complete mixing in this step.
6. Incubate for **60 minutes** at room temperature.
7. Briskly shake out the contents of the wells.
8. Rinse the wells 3 times with diluted Wash Solution (400 µL per well). Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.

##### Important note:

The sensitivity and precision of this assay is markedly influenced by the correct performance of the washing procedure!

9. Add **200 µL** of *Substrate Solution* to each well.
10. Incubate for **30 minutes** at room temperature.
11. Stop the enzymatic reaction by adding **100 µL** of *Stop Solution* to each well.
12. Read the OD at **450±10 nm** with a microtiter plate reader **within 10 minutes** after adding the *Stop Solution*.

### 6.3 Calculation of Results

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

Below is listed a typical example of a calibrator curve with the 17- $\alpha$ -OH Progesterone ELISA.

Calibrator	Optical Units (450 nm)
Calibrator 0 (0 ng/mL)	1,89
Calibrator 1 (0,15 ng/mL)	1,51
Calibrator 2 (0,5 ng/mL)	1,1
Calibrator 3 (1,5 ng/mL)	0,69
Calibrator 4 (3,0 ng/mL)	0,46
Calibrator 5 (7,5 ng/mL)	0,28
Calibrator 6 (20 ng/mL)	0,18

## 7 EXPECTED VALUES

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

In a study using the 17- $\alpha$ -OH Progesterone ELISA the following values are observed:

Newborns	girls	boys	boys and girls
1. month after birth	2.4 - 16.8 ng/mL	0.0 - 8.0 ng/mL	0 - 16.8 ng/mL
2. month after birth	1.6 - 9.7 ng/mL	3.6 - 13.7 ng/mL	1.9 - 9.8 ng/mL
3. month after birth	0.1 - 3.1 ng/mL	1.7 - 4.0 ng/mL	0.1 - 4.0 ng/mL

Children	3 - 14 years	0.07 - 1.7 ng/mL
Reproductive aged women	Follicular phase:	0.1 - 0.8 ng/mL
	Luteal phase:	0.6 - 2.3 ng/mL
	Ovulation:	0.3 - 1.4 ng/mL
	Post ACTH:	< 3.2 ng/mL
	Third trimester: *	2.0 - 12 ng/mL
Postmenopausal women	0.13 - 0.51 ng/mL	
Normal men		0.5 - 2.1 ng/mL

The results alone should not be the only reason for any therapeutic consequences. The results should be correlated to other clinical observations and diagnostic tests.

## 8 QUALITY CONTROL

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

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

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

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

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

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

## 9 ASSAY CHARACTERISTICS

### 9.1 Assay Dynamic Range

The range of the assay is between 0.034 - 20 ng/mL.

### 9.2 Specificity of Antibodies (Cross Reactivity)

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

Steroid	% Cross Reaction
17- $\alpha$ -OH Progesterone	100.0
Estriol	< 0.01
Estradiol 17 $\beta$	< 0.01
Testosterone	< 0.01

Dihydrotestosterone	< 0.01
DOC	0.05
11-Desoxicortisol	1.4
Progesterone	1.2
DHEA	< 0.01
DHEAS	< 0.001
Cortisol	< 0.01
Corticosterone	< 0.05
Aldosterone	< 0.01
Androstendione	< 0.01
Dehydroepiandrosten sulfate	< 0.01
Prednison	< 0.01

### 9.3 Analytical Sensitivity

The analytical sensitivity was calculated from the mean minus two standard deviations of twenty (20) replicate analyses of *Calibrator 0* and was found to be 0.034 ng/mL.

### 9.4 Precision

#### 9.4.1 Intra Assay Variation

The within assay variability is shown below:

Sample	n	Mean (ng/mL)	CV (%)
1	20	0.53	5.40
2	20	2.79	6.42
3	20	7.23	5.54

#### 9.4.2 Inter Assay Variation

The between assay variability is shown below:

Sample	n	Mean (ng/mL)	CV (%)
1	12	0.53	7.21
2	12	2.95	6.17
3	12	7.80	6.87

### 9.5 Recovery

Recovery was determined by adding increasing amounts of the analyte to three different patient sera containing different amounts of endogenous analyte. Each sample (non-spiked and spiked) was assayed and analyte concentrations of the samples were calculated from the calibration curve. The percentage recoveries were determined by comparing expected and measured values of the samples.

Sample	Endogenous 17 $\alpha$ OH-P ng/mL	Added 17 $\alpha$ OH-P ng/mL	Measured Conc. 17 $\alpha$ OH-P ng/mL	Expected Conc 17 $\alpha$ OH-P ng/mL	Recovery (%)
1	11.18	0.00	11.18		
		10.00	13.48	15.59	86.5
		3.75	9.84	9.34	105.3
		1.50	6.09	7.09	85.9
		0.75	5.39	6.34	85.0
2	1.43	0.00	1.43		
		10.00	9.67	10.71	90.2
		3.75	4.66	4.46	104.3
		1.50	2.48	2.21	111.9
		0.75	1.66	1.46	113.1
3	4.68	0.00	4.68		
		10.00	11.18	12.34	90.6
		3.75	6.03	6.09	99.1
		1.50	3.90	3.84	101.5
		0.75	3.49	3.09	112.8

## 9.6 Linearity

Sample	Dilution	Measured Conc. 17 $\alpha$ OH-P (ng/mL)	Expected Conc. 17 $\alpha$ OH-P (ng/mL)	Recovery (%)
1	None	11,18	11,18	
	1:2	5,44	5,59	97,2
	1:4	2,47	2,80	88,4
	1:8	1,25	1,40	89,6
	1:16	0,72	0,70	102,4
2	None	1,43	1,43	
	1:2	0,68	0,71	94,7
	1:4	0,33	0,36	91,4
	1:8	0,16	0,18	86,9
	1:16	0,10	0,09	113,2
3	None	4,68	4,68	
	1:2	2,16	2,34	92,1
	1:4	1,00	1,17	85,2
	1:8	0,56	0,59	95,6
	1:16	0,29	0,29	98,8

## 10 LIMITATIONS OF USE

Reliable and reproducible results will be obtained when the assay procedure is performed with a complete understanding of the package insert instruction and with adherence to good laboratory practice.

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

### 10.1 Interfering Substances

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

### 10.2 Drug Interferences

Until today no substances (drugs) are known to us, which have an influence to the measurement of 17- $\alpha$ -OH Progesterone in a sample.

### 10.3 High-Dose-Hook Effect

No hook effect was observed in this test.

## 11 LEGAL ASPECTS

### 11.1 Reliability of Results

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

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

### 11.2 Therapeutical Consequences

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

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

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

### 11.3 Liability

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

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



## 12 REFERENCES

1. Abraham, G.E., R.S. Swerdloff, D. Tulchinsky et al: Radioimmunoassay of plasma 17-hydroxyprogesterone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 33:42, 1971
2. Chrousos, G.P., D. L. Loriaux, D.L. Mann, et al: Late onset 21- hydroxylase deficiency mimicking idiopathic hirsutism or polycystic ovarian disease. *Annals Intern. Med.* 96:143, 1982.
3. Buster, J.E., R.J. Chang, D.L. Preston, et al: Interrelationships of circulating maternal steroids; progesterone, 16 $\alpha$ -hydroxyprogesterone, 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone, 20 $\alpha$ -dihydroprogesterone, gamma-5-pregnenolone, gamma-5- pregnenolone-sulfate, gamma-5-pregnenolone-sulfate and 17-hydroxy gamma-5-pregnenolone, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 48:133, 1979.
4. New, M.I., B. Dupont, S. Pang, et al: An update on congenital adrenal hyperplasia. *Recent Progress in Hormone Research*, 37:105, 1981.  
5. Pang S.,
5. J. Hotchkiss, A. Drash, et al: Micro filter paper method for 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone radioimmunoassay: Its application for rapid screening for congenital adrenal hyperplasia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 45:1003, 1977.
6. Lobo, R.A., U. Goebelsmann: Adult manifestation of congenital adrenal hyperplasia due to incomplete 21-hydroxylase deficiency mimicking polycystic ovarian disease. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 138:720, 1980.
7. Urban, M.D., P.A. Lee and C.J. Migeon: Adult high infertility in men with congenital adrenalized hyperplasia. *N. Engl. J. Med.* 299:1392, 1978.
8. Meikle, A.W., R.J. Worley and C.D. West: Adrenal corticoid hyper-response in hirsute women. *Fertil. Steril.* 41:575, 1984
9. Ueshiba, H., Zerah M., New M. I.: Enzyme-linked Immunosorbent assay (ELISA). Method for screening of non-classical steroid 21-Hydroxylase deficiency. *Norm. Metab. Res.* 26:43, 1994

Revision date: 2012-06-04



# 17- $\alpha$ -OH Progesterone-ELISA

es

KAPD1292

*Para uso diagnóstico in vitro*

DIASource ImmunoAssays S.A. - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax : +32 10 84 99 91

## 1. INTRODUCCIÓN

El **Kit de inmunoensayo enzimático DIASource 17- $\alpha$ -OH Progesterone** proporciona los materiales necesarios para la determinación cuantitativa del 17- $\alpha$ -Hidroxiprogesterona (17- $\alpha$ -OHP) en suero.

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

El esteroide 17- $\alpha$ -Hidroxiprogesterona (17- $\alpha$ -OHP) es producido tanto por las glándulas suprarrenales como por las gónadas. A pesar de que 17- $\alpha$ -OHP tiene una actividad progestacional relativamente débil, es de alto interés clínico debido a que es el precursor inmediato del 11-deoxicortisol (Cpd-S). Debido a que Cpd-S es producido por la 21-hidroxilación de 17- $\alpha$ -OHP, la medición de 17- $\alpha$ -OHP es un indicador indirecto útil para medir actividad de la 21-hydroxilasa. En la deficiencia congénita de 21-hidroxilasa, la variedad de hiperplasia congénita suprarrenal más común, (CAH), 17- $\alpha$ -OHP es secretada en exceso. También está aumentada en forma moderada en la deficiencia de 11- $\beta$ -hidroxilasa. Por lo tanto la medición de 17- $\alpha$ -OHP es de valor para el diagnóstico inicial de CAH.

### 1.1. FISIOLÓGIA CLINICA

#### **Mujeres adultas no-embarazadas:**

En el grupo de mujeres adultas no-embarazadas en edad reproductiva, la concentración de 17- $\alpha$ -OHP varía a través del ciclo menstrual con las concentraciones durante la fase lútea siendo más altas que las concentraciones de la fase folicular. Esto se debe a que 17- $\alpha$ -OHP es secretada en el mismo tiempo que la progesterona por folículos en proceso de maduración o por el cuerpo lúteo. También existe un rango de concentraciones diurnas de 17- $\alpha$ -OHP.

Este ritmo es paralelo a la secreción de cortisol suprarrenal, de modo que las concentraciones máximas de 17- $\alpha$ -OHP se pueden medir en muestras obtenidas entre la medianoche y las 8:00 am.

#### **Hombres Adultos:**

Hay muy poca información disponible acerca de la variabilidad sistemática de la concentración de 17- $\alpha$ -OHP en hombres adultos.

#### **Mujeres embarazadas y recién nacidos:**

El feto y las suprarrenales producen grandes cantidades del esteroide 17- $\alpha$ -OHP. Se secreta en forma abundante a la circulación tanto de la madre como del feto. Las concentraciones maternas de 17- $\alpha$ -OHP aumentan drásticamente después de la semana 23 de gestación, hasta 4 veces sobre la concentración basal a término.

### 1.2. USOS CLÍNICOS

#### **Hiperplasia adrenal congénita:**

El uso más importante del ELISA 17- $\alpha$ -OHP es en el diagnóstico de CAH en recién nacidos con genitalia ambigua y niñas adolescentes virilizadas. Ya que 17- $\alpha$ -OHP es el precursor inmediato de 11-desoxicortisol, las concentraciones basales de 17- $\alpha$ -OHP se encuentran aumentadas en forma drástica en pacientes deficientes en 21-hidroxilasa y en menor grado en pacientes deficientes en 11-hidroxilasa.

Debido a que las concentraciones están tan elevadas en los recién nacidos y niñas adolescentes que presentan CAH, normalmente, lo único que se requiere es una medición basal única para hacer un diagnóstico.

#### **Comienzo tardío de hiperplasia adrenal:**

Recientemente, las concentraciones de 17- $\alpha$ -OHP se han utilizado en la evaluación de mujeres androgenizadas en quienes se sospecha un comienzo tardío de deficiencia de 21-hidroxilasa. En esta condición, la presentación clínica es muy poco evidente e igual como se presenta la forma clásica de la enfermedad de ovario poliquístico, las concentraciones plasmáticas basales de 17- $\alpha$ -OHP, al contrario de la hiperplasia congénita adrenal, son normales. El diagnóstico se hace administrando una prueba de estimulación de ACTH.

#### **Otros usos:**

Las mediciones de la concentración de 17- $\alpha$ -OHP también se usan para evaluar hombres y mujeres con acné vulgaris, calvicie masculina y en algunos casos de infertilidad no evidente. La experiencia en estos usos es muy limitada.

## 2. FUNDAMENTO DEL ENSAYO

El Kit DIASource 17- $\alpha$ -OH Progesterone ELISA es un ensayo en fase sólida de inmunoabsorción unido a enzimas (ELISA), basado en el principio de unión competitiva.

Los pocillos de las placas están recubiertos con un anticuerpo policlonal dirigido contra un foci antigénico en la molécula 17- $\alpha$ -OHP. En las muestras de los pacientes 17- $\alpha$ -OHP compete con un conjugado 17- $\alpha$ -OHP -peroxidasa de rábano en la unión al anticuerpo inmovilizado. Después de la incubación el conjugado no unido se lava.

La cantidad de conjugado de peroxidasa unido es inversamente proporcional a la concentración de 17- $\alpha$ -OHP en la muestra. Después de la adición de la solución sustrato, la intensidad de color desarrollado es inversamente proporcional a la concentración de 17- $\alpha$ -OHP en la muestra del paciente.

### 3. PRECAUCIONES

- Este kit es solamente para diagnóstico *in vitro*. Sólo para uso profesional.
- Para obtener información de las sustancias peligrosas incluidas en el kit por favor mirar las hojas de los datos de seguridad del material.
- Todos los reactivos en este kit de ensayo que contienen suero o plasma humano se han ensayado y confirmado ser negativos para HIV I/II, HBsAg y HCV mediante procedimientos aprobados por la FDA. Sin embargo, todos los reactivos deben ser tratados tanto en su uso como dispensación como potencialmente biopeligrosos.
- Antes de comenzar el ensayo, leer todas las instrucciones cuidadosamente. Usar la versión válida del inserto que viene con el kit. Asegurarse de haber comprendido todas las instrucciones.
- La microplaca contiene tiras desprendibles. Los pocillos no usados deben ser almacenados de 2°C a 8°C en la bolsa de aluminio sellada y colocados en el marco provisto para ser utilizados.
- El pipeteo de muestras y reactivos debe hacerse lo más rápido posible y en la misma secuencia para cada paso.
- Usar las cubetas para un solo reactivo. Esto es especialmente importante en el caso de las cubetas para el sustrato. Usar una cubeta para solución de sustrato que ha sido usada previamente con la solución de conjugado, puede colorear la solución. No devolver los restos de reactivos a los envases originales, ya que puede producirse contaminación de los reactivos.
- Mezclar muy bien el contenido de los pocillos para asegurar un buen resultado. No volver a usar las microplacas.
- No dejar que los pocillos se sequen durante el ensayo; agregar los reactivos inmediatamente después de terminado el paso de enjuague.
- Dejar que los reactivos alcancen temperatura ambiente (21-26°C) antes de comenzar la prueba. La temperatura afectará las lecturas de absorbancia del ensayo. Sin embargo, los valores de las muestras de los pacientes no se verán afectados.
- Nunca pipetear con la boca y evitar el contacto de los reactivos y las muestras con la piel y con membranas mucosas.
- No fumar, comer, beber o usar cosméticos en áreas donde las muestras o los reactivos del kit están siendo usados.
- Usar guantes de látex cuando se utilicen las muestras y los reactivos. La contaminación microbiana de los reactivos o las muestras puede dar resultados erróneos.
- El manejo debe realizarse de acuerdo a los procedimientos definidos por las guías o regulación nacionales de seguridad de sustancias biopeligrosas.
- No utilizar los reactivos después de su fecha de caducidad que aparece en las etiquetas del kit.
- Todos los volúmenes indicados han de ser realizados de acuerdo con el protocolo. Los resultados óptimos del ensayo se obtienen solo cuando se utilizan pipetas y lectores de microplacas calibrados.
- No mezclar o usar componentes de kits con distinto número de lote. Se recomienda no intercambiar pocillos de distintas placas incluso si son del mismo lote. Los kits pueden haber sido enviados o almacenados bajo diferentes condiciones y las características de unión de las placas pueden resultar diferentes.
- Evitar contacto con la *Solución de Parada* que contiene 0,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Puede causar irritación en la piel y quemaduras.
- Algunos reactivos contienen Proclin, BND y MIT como conservantes. En caso de entrar en contacto con los ojos o la piel, lavar inmediatamente con abundante agua.
- El sustrato TMB tiene un efecto irritante en piel y mucosas. En caso de posible contacto, lavar los ojos con un volumen abundante agua y la piel con jabón y abundante agua. Lavar los objetos contaminados antes de usarlos nuevamente. Si se inhala, sacar a la persona al aire libre.
- Los compuestos químicos y los reactivos preparados o utilizados han de tratarse como residuos peligrosos de acuerdo con las guías o regulación nacionales de seguridad de sustancias biopeligrosas.
- Para información sobre sustancias peligrosas incluidas en el kit, por favor referirse a las hojas de datos de seguridad de materiales. Las hojas de datos de seguridad de materiales para este producto están disponibles a pedido en DIAsource ImmunoAssays S.A.

### 4. COMPONENTES DEL KIT

#### 4.1. Componentes del Kit

1. 

TLF
-----

 12x8 tiras separables, 96 pocillos;  
Pocillos recubiertos con anticuerpo anti- 17- $\alpha$ -OHP (policlonal)
2. 

CAL	N
-----	---

 N=1 - 6, Set de Calibradores de Referencia, 6 viales, 1 ml cada uno  
Contiene conservante sin mercurio  
Mirar los valores exactos en las etiquetas.  
Conversión : ng/mL x 3.03 = nmol/L
3. 

CONTROL	N
---------	---

 2 viales, 1 mL, listo para usar;  
Referir los valores y rangos del control a la etiqueta del vial o a la Hoja de datos QC.  
Contiene conservante sin mercurio
4. 

CAL	0
-----	---

 Calibrador Cero, 1 vial, 1 ml  
Contiene conservante sin mercurio
5. 

Ag	HRP
----	-----

 1 vial, 25 ml, listo para usar  
17- $\alpha$ -OHP conjugado con la Peroxidasa de rábano  
\*Contiene conservante sin mercurio
6. 

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

 ( Solución de sustrato) 1 vial, 25ml, listo para usar  
TMB
7. 

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

 1 vial, 14 ml  
contiene 0,5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
Evitar el contacto con la Solución de parada. Puede causar irritación y quemaduras en la piel.
8. 

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

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

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

#### 4.2. Equipamiento y material requerido pero no provisto

- Lector de microplacas calibrado (450±10 nm)
- Micropipetas de precisión variable calibradas.
- Papel absorbente.
- Agua destilada.
- Papel de gráfico Semi logarítmico

#### 4.3. Almacenamiento y estabilidad del kit

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

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

Los kits abiertos conservan su actividad durante 6 semanas si se almacenan como se ha descrito arriba.

#### 4.4. Preparación de los Reactivos

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

##### **Solución de lavado**

Agregar agua desionizada a la solución de lavado concentrada x 40.

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

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

#### 4.5. Eliminación del Kit

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

#### 4.6. Kits dañados

En caso de que el kit o sus componentes estén seriamente dañados, DIAsource ImmunoAssays S.A. debe ser informado por escrito a mas tardar una semana después de recibido el kit. Componentes individuales que han sido seriamente dañados, no deben ser utilizados para las pruebas. Deben ser almacenados hasta que se encuentre una solución adecuada. Después de esto pueden ser eliminados de acuerdo a las reglas oficiales.

### 5. MUESTRAS

En este ensayo pueden usarse suero.

No usar muestras hemolíticas, ictericas o lipémicas.

Tener en cuenta: No deben usarse muestras que contengan acida sódica

#### 5.1 Toma de muestras

##### **Suero:**

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

#### 5.2 Almacenamiento de las muestras

Las muestras deben ser tapadas y pueden ser almacenadas hasta 24 horas a 2-8°C antes del ensayo.

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

#### 5.3 Dilución de las muestras

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

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

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

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

### 6. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

#### 6.1 Consideraciones generales

- Todos los reactivos y muestras han de estar a temperatura ambiente antes de su uso. Todos los reactivos deben mezclarse sin formar espuma.
- Una vez se ha comenzado el ensayo deben completarse todos los pasos sin interrupción.
- Utilizar puntas de pipeta de plástico nuevas para cada estándar, control o muestra para evitar combinaciones cruzadas.
- La absorbancia es función del tiempo de incubación y la temperatura. Antes de comenzar el ensayo, se recomienda que todos los reactivos estén preparados, tapas removidas, todos los pocillos que se necesiten asegurados en recipiente, etc. Esto asegurará un tiempo similar para cada paso de pipeteo sin que haya interrupciones.
- Como regla general, la reacción enzimática es linealmente proporcional al tiempo y a la temperatura.

## 6.2 Procedimiento de ensayo

Cada uno debe incluir una curva de estándares.

1. Asegurar el número deseado de pocillos en el recipiente.
2. Dispensar **25 µL** de cada *Calibrador*, *Control* y muestras con puntas nuevas en los pocillos adecuados.
3. Incubar durante **5 minutos** a temperatura ambiente
4. Dispensar **200 µL** de *HRP conjugado* a cada pocillo.
5. Mezclar totalmente durante 10 segundos. Es importante mezclar completamente en este paso.
6. Incubar durante **60 minutos** a temperatura ambiente.
7. Sacudir enérgicamente el contenido de los pocillos.
8. Lavar los pocillos 3 veces con solución de lavado diluida (400 µL por pocillo). Realizar un golpe seco de los pocillos contra el papel absorbente para eliminar las gotas residuales.  
**Nota importante:**  
La sensibilidad y la precisión de este ensayo se ve marcadamente influenciada por la realización correcta del proceso de lavado!
9. Adicionar **200 µL** de Solución cromógena TMB a cada pocillo.
10. Incubar durante **30 minutos** a temperatura ambiente.
11. Parar la reacción enzimática mediante la adición de **100 µL** de Solución de parada a cada pocillo.
12. Leer la OD a **450±10 nm** con un lector de microplacas **dentro de los 10 minutos** después de la adición de la *Solución de parada*.

## 6.3 Cálculo de los Resultados

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

Abajo aparece un ejemplo típico de una curva calibrador con el Biosource 17-α-OH Progesterone ELISA.

Calibrador	Unidades Ópticas (450 nm)
Calibrador 0 (0 ng/mL)	1,89
Calibrador 1 (0,15 ng/mL)	1,51
Calibrador 2 (0,5 ng/mL)	1,1
Calibrador 3 (1,5 ng/mL)	0,69
Calibrador 4 (3,0 ng/mL)	0,46
Calibrador 5 (7,5 ng/mL)	0,28
Calibrador 6 (20 ng/mL)	0,18

## 7. VALORES ESPERADOS

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

En un estudio utilizando el 17-α-OH Progesterone ELISA se observaron los siguientes valores:

Recién nacidos	niñas	niños	niñas y niños
1. mes después del nacimiento	2,4 - 16,8 ng/mL	0,0 - 8,0 ng/mL	0 - 16,8 ng/mL
2. meses después del nacimiento	1,6 - 9,7 ng/mL	3,6 - 13,7 ng/mL	1,9 - 9,8 ng/mL
3. meses después del nacimiento	0,1 - 3,1 ng/mL	1,7 - 4,0 ng/mL	0,1 - 4,0 ng/mL

Niños	3 - 14 años	0,07 – 1,7 ng/mL
Mujeres	Fase folicular:	0,1 – 0,8 ng/mL
	Fase lútea:	0,6 – 2,3 ng/mL
	Ovulación:	0,3 – 1,4 ng/mL
	Post ACTH:	< 3,2 ng/mL
	Tercer trimestre:	2,0 - 12 ng/mL
Postmenopausica	0,13 – 0,51 ng/mL	
Hombres		0,5 – 2,1 ng/mL

Los resultados por si solos no deben ser la única razón para tomar decisiones terapéuticas. Los resultados deber estar relacionados con otras observaciones clínicas y pruebas de diagnóstico.

## 8. CONTROL DE CALIDAD

La buena práctica de laboratorio exige que se incluyan controles con cada curva de calibración. Un número de controles estadísticamente significativos deben ser ensayados para establecer valores promedio y rangos aceptables para asegurar un desempeño adecuado.

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

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

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

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

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

## 9. CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

### 9.1. Rango dinámico del ensayo

El rango del ensayo se encuentra entre 0,034 – 20 ng/mL.

### 9.2. Especificidad de los Anticuerpos (Reactividad Cruzada)

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

<u>Esteroides</u>	<u>% Reacción cruzada</u>
17- $\alpha$ -OH Progesterone	100,0
Estriol	< 0,01
Estradiol 17 $\beta$	< 0,01
Testosterone	< 0,01
Dihydrotestosterone	< 0,01
DOC	0,05
11-Desoxicortisol	1,4
Progesterone	1,2
DHEA	< 0,01
DHEAS	< 0,001
Cortisol	< 0,01
Corticosterone	< 0,05
Aldosterone	< 0,01
Androstendione	< 0,01
Dehydroepiandrosten sulfate	< 0,01
Prednison	< 0,01

### 9.3. Sensibilidad Analítica

La sensibilidad analítica se calculó a partir de la media menos dos desviaciones estándar de veinte (20) réplicas del Calibrador 0 y resultó ser 0,034 ng/mL.

### 9.4. Precisión

#### 9.4.1. Variación Intra Ensayo

La variabilidad del mismo ensayo se muestra abajo:

Muestra	n	Media (ng/mL)	CV (%)
1	20	0,53	5,40
2	20	2,79	6,42
3	20	7,23	5,54

#### 9.4.2. Variación Entre Ensayos

La variabilidad entre diferentes ensayos se muestra abajo:

Muestra	n	Media (ng/mL)	CV (%)
1	12	0,53	7,21
2	12	2,95	6,17
3	12	7,80	6,87

### 9.5. Recuperación

La Recuperación fue determinada añadiendo cantidades crecientes del analito a 3 sueros diferentes que contenían diferentes cantidades de analito endógeno. A cada muestra (no-adicionada y adicionada) se le hizo un ensayo y las concentraciones de los analitos de las muestras se calcularon a partir de la curva de calibración. Los porcentajes de recuperación fueron determinados comparando los valores esperados contra los valores obtenidos de las muestras.

Muestra	Endógeno 17 $\alpha$ OH-P ng/mL	17 $\alpha$ OH-P añadido ng/mL	Conc. Medida 17 $\alpha$ OH-P ng/mL	Conc Esperada 17 $\alpha$ OH-P ng/mL	Recupera- do (%)
1	11,18	0,00	11,18		
		10,00	13,48	15,59	86,5
		3,75	9,84	9,34	105,3
		1,50	6,09	7,09	85,9
		0,75	5,39	6,34	85,0
2	1,43	0,00	1,43		
		10,00	9,67	10,71	90,2
		3,75	4,66	4,46	104,3
		1,50	2,48	2,21	111,9
		0,75	1,66	1,46	113,1
3	4,68	0,00	4,68		
		10,00	11,18	12,34	90,6
		3,75	6,03	6,09	99,1
		1,50	3,90	3,84	101,5
		0,75	3,49	3,09	112,8

### 9.6. Linealidad

Muestra	Dilución	Conc. Medida 17 $\alpha$ OH-P (ng/mL)	Conc. Esperada 17 $\alpha$ OH-P (ng/mL)	Recuperado (%)
1	Sin diluir	11,18	11,18	
	1:2	5,44	5,59	97,2
	1:4	2,47	2,80	88,4
	1:8	1,25	1,40	89,6
	1:16	0,72	0,70	102,4
2	Sin diluir	1,43	1,43	
	1:2	0,68	0,71	94,7
	1:4	0,33	0,36	91,4
	1:8	0,16	0,18	86,9
	1:16	0,10	0,09	113,2
3	Sin diluir	4,68	4,68	
	1:2	2,16	2,34	92,1
	1:4	1,00	1,17	85,2
	1:8	0,56	0,59	95,6
	1:16	0,29	0,29	98,8

## 10. LIMITACIONES DE USO

Resultados confiables y reproducibles se obtendrán cuando el procedimiento del ensayo se lleve a cabo con una comprensión absoluta de las instrucciones en el inserto y apegándose a una buena práctica de laboratorio. Cualquier manejo inapropiado de las muestras o modificación de esta prueba puede influenciar los resultados.

### 10.1. SUSTANCIAS QUE PUEDEN INTERFERIR

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

### 10.2. INTERFERENCIAS CON DROGAS

Hasta ahora no se han encontrado sustancias (drogas) conocidas por nosotros, que tengan influencia en la medida de 17- $\alpha$ -OHP en una muestra.

### 10.3. EFECTO GANCHO-DOSIS-ELEVADA

No se ha observado efecto gancho en este ensayo.

## 11. ASPECTOS LEGALES

### 11.1. FIABILIDAD DE LOS RESULTADOS

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

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

### 11.2. CONSECUENCIAS TERAPÉUTICAS

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

Solamente en los casos donde los resultados de laboratorio están en acuerdo con todo el cuadro clínico de un paciente, se pueden derivar consecuencias terapéuticas.

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

### 11.3. RESPONSABILIDAD

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

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

## 12. REFERENCIAS

1. Abraham, G.E., R.S. Swerdloff, D. Tulchinsky et al: Radioimmunoassay of plasma 17-hydroxyprogesterone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 33:42, 1971
2. Chrousos, G.P., D. L. Loriaux, D.L. Mann, et al: Late onset 21- hydroxylase deficiency mimicking idiopathic hirsutism or polycystic ovarian disease. *Annals Intern. Med.* 96:143, 1982.
3. Buster, J.E., R.J. Chang, D.L. Preston, et al: Interrelationships of circulating maternal steroids; progesterone, 16 $\alpha$ -hydroxyprogesterone, 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone, 20 $\alpha$ -dihydroprogesterone, gamma-5-pregnenolone, gamma-5- pregnenolone-sulfate, and 17-hydroxy gamma-5-pregnenolone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 48:133, 1979.
4. New, M.I., B. Dupont, S. Pang, et al: An update on congenital adrenal hyperplasia. *Recent Progress in Hormone Research*, 37:105, 1981. 5. Pang S.,
5. J. Hotchkiss, A. Drash, et al: Micro filter paper method for 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone radioimmunoassay: Its application for rapid screening for congenital adrenal hyperplasia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 45:1003, 1977.
6. Lobo, R.A., U. Goebelsmann: Adult manifestation of congenital adrenal hyperplasia due to incomplete 21-hydroxylase deficiency mimicking polycystic ovarian disease. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 138:720, 1980.
7. Urban, M.D., P.A. Lee and C.J. Migeon: Adult high infertility in men with congenital adrenalized hyperplasia. *N. Engl. J. Med.* 299:1392, 1978.
8. Meikle, A.W., R.J. Worley and C.D. West: Adrenal corticoid hyper-response in hirsute women. *Fertil. Steril.* 41:575, 1984
9. Ueshiba, H., Zerah M., New M. I.: Enzyme-linked Immunosorbent assay (ELISA). Method for screening of non-classical steroid 21-Hydroxylase deficiency. *Norm. Metab. Res.* 26:43, 1994

fecha de revision : 2012-06-04





# 17- $\alpha$ -OH Progesterone-ELISA

fr

KAPD1292

**A UTILISER EN CAS DE TEST DIAGNOSTIQUE IN VITRO**

DIAsource ImmunoAssays S.A. - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax : +32 10 84 99 91

## 1 INTRODUCTION

Le kit de dosage immuno-enzymatique **DIAsource 17- $\alpha$ -OH Progesterone ELISA** propose les matériaux requis pour la mesure quantitative de 17- $\alpha$ -hydroxyprogesterone (17- $\alpha$ -OHP) dans le sérum ou le plasma.

**Ce kit est à utiliser uniquement dans le cadre de tests diagnostiques in vitro.**

## 2 PRINCIPE DU TEST

Le kit DIASOURCE 17- $\alpha$ -OH Progesterone ELISA est basé sur une réaction immuno-enzymatique compétitive.

Les micro-plaques sont recouvertes avec un anticorps polyclonal dirigé contre un antigène spécifique de la molécule 17- $\alpha$ -OHP. Le 17- $\alpha$ -OHP endogène contenu dans l'échantillon du patient entre en compétition avec le conjugué à la HRP pour la liaison à l'anticorps. Après incubation, le conjugué non-lié est éliminé durant le lavage des puits.

La quantité de peroxidase liée est inversement proportionnelle à la concentration de 17- $\alpha$ -OHP contenue dans l'échantillon. Suite à l'addition de solution substrat, l'intensité de coloration obtenue est inversement proportionnelle à la concentration de 17- $\alpha$ -OHP contenue dans l'échantillon.

## 3 PRECAUTIONS D'UTILISATION

- Ce kit est uniquement destiné aux tests diagnostiques in vitro.
- Utilisez uniquement la version valide d'instructions d'utilisation qui est incluse dans le kit.
- Les informations concernant la toxicité des réactifs contenus dans ce kit sont présentées dans la fiche de sécurité (« Material Safety Data Sheets »).
- Tous les réactifs de ce kit contenant du sérum ou du plasma humain ont été testés avec des résultats négatifs pour le VIH I/II, le HBsAg et le HCV selon les normes FDA en vigueur. Néanmoins, lors de leur utilisation, tous les réactifs de ce kit doivent être manipulés avec précaution.
- Eviter les contacts avec la *Stop Solution*, celle-ci contient 0.5 M de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Cela pourrait engendrer irritations ou brûlures de la peau.
- Ne jamais pipeter avec la bouche, et éviter tout contact de la peau ou des muqueuses avec les réactifs ou les échantillons.
- Ne pas fumer, manger, boire ou utiliser des produits cosmétiques dans les zones où les échantillons ou le kit ont été maniés.
- Porter des gants d'examen lors de l'utilisation des échantillons ou des réactifs. Une contamination microbienne des échantillons ou des réactifs pourrait fausser les résultats.
- L'utilisation de ce kit devra être en accord avec les normes ou recommandations nationales de sécurité en vigueur concernant les produits à risque biologique.
- Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date d'expiration inscrite sur l'emballage.
- Tous les volumes indiqués doivent être scrupuleusement respectés, comme indiqué dans le protocole expérimental. Seule l'utilisation de pipettes calibrées ou d'un spectrophotomètre lecteur de micro-plaques calibré garantit l'obtention de résultats optimaux à ce test.
- Ne pas mélanger ou utiliser des réactifs contenus dans des kits de lots différents. Il est conseillé de ne pas échanger les puits de différentes plaques, même si celles-ci proviennent du même lot. Les kits peuvent avoir été transportés ou stockés différemment, et les caractéristiques de liaison de chaque plaque pourraient ainsi être modifiées.
- L'élimination des solutions chimiques et des réactifs contenus dans ce kit, utilisés ou non, doit être en accord avec la réglementation nationale en vigueur concernant l'élimination des déchets à risque biologique.
- La fiche de sécurité concernant ce produit peut être obtenue en contactant directement DIAsource ImmunoAssays SA. Les fiches de sécurité sont en accord avec les directives européennes EU 91/155 EC.

## 4 KIT COMPONENTS

### 4.1 Contents of the Kit

- |     |
|-----|
| 111 |
|-----|

 (Plaquettes de micro-titration) 12x8 (à détacher) barrettes, plaques de 96 puits  
Les puits sont recouverts avec un anticorps Anti-17- $\alpha$ -OHP (polyclonal)
- |     |   |
|-----|---|
| CAL | N |
|-----|---|

 N=1 à 6, Set de référence des calibrateurs, 6 flacons, 1 ml  
Contient agent de conservation sans mercure  
Concentrations: 0,15; 0,5; 1,5; 3; 7,5; 20 ng/ml  
0,45; 1,5; 4,5; 9,1; 22,7; 60,6 nmol/L  
Conversion : ng/mL x 3.03 = nmol/L
- |     |   |
|-----|---|
| CAL | 0 |
|-----|---|

 Calibrateur 0, 1 flacon, 1 ml  
Contient agent de conservation sans mercure
- |         |   |
|---------|---|
| CONTROL | N |
|---------|---|

 2 flacons, 1 mL , prêt à l'emploi;  
Les valeurs contrôles et limites sont indiquées sur l'étiquette du flacon ou sur la fiche QC  
Contient agent de conservation sans mercure
- |    |     |
|----|-----|
| Ag | HRP |
|----|-----|

 1 flacon, 25 ml, prêt à l'emploi  
17- $\alpha$ -OH Progesterone conjugué à la HRP  
Contient agent de conservation sans mercure
- |       |     |
|-------|-----|
| CHROM | TMB |
|-------|-----|

 (Solution Substrat) 1 flacon, 25ml, prêt à l'emploi  
Tétraméthylbenzidine :TMB
- |      |      |
|------|------|
| STOP | SOLN |
|------|------|

 (Solution d'arrêt) 1 flacon, 14 ml  
Contient 0.5 M de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
Eviter les contacts avec la solution stop. Cela pourrait engendrer irritations ou brûlures de la peau..
- |      |      |      |
|------|------|------|
| WASH | SOLN | CONC |
|------|------|------|

 (Solution de lavage) 1 flacon, 30 ml (concentré 40 x)  
Voir "Préparation des réactifs"

**Remarque:** Un Calibrateur 0 Supplémentaire peut être fourni sur demande

### 4.2 Equipement et matériel requis, mais non fournis

- Un spectrophotomètre lecteur de micro-plaques calibré (450  $\pm$  10 nm)
- Des micro-pipettes de précision variables et calibrées.
- Du papier absorbant.
- De l'eau distillée.

### 4.3 Stockage et stabilité du kit

Les réactifs contenus dans des flacons non-ouverts, stockés à 2 °C à 8 °C, seront stables jusqu'à la date d'expiration inscrite sur l'étiquette. Ne pas utiliser les réactifs au delà de cette date.

Les réactifs contenus dans des flacons ouverts doivent être stockés à 2 °C à 8 °C. Les micro-plaques doivent être stockées à 2 °C à 8 °C. Une fois la capsule d'aluminium ouverte, attention à bien refermer le flacon.

Les kits ouverts conservent leur activité durant 6 semaines s'ils sont stockés comme précédemment mentionné.

### 4.4 Préparation des réactifs

Amener tous les réactifs et le nombre de barrettes nécessaires au test à température ambiante avant utilisation.

#### **Wash Solution**

Diluer 30 mL de Wash Solution concentrée avec 1170 mL d'eau désionisée, pour un volume final de 1200 mL.

**Remarque :** La solution de lavage diluée est stable deux semaines à température ambiante.

### 4.5 Elimination des déchets relatifs au kit

L'élimination des déchets relatifs au kit doit être réalisée selon les règles nationales en vigueur. Les informations spécifiques au kit sont présentées dans la fiche de sécurité (voir chapitre 13).

### 4.6 Kits endommagés

Dans le cas de dommages importants survenus au kit ou ses composants, informer DIAsource, au plus tard une semaine après réception du kit. Les composants endommagés ne doivent pas être utilisés pour le test. Ils doivent être stockés jusqu'à ce qu'une solution adaptée ait été trouvée. Après cela, ils doivent être éliminés selon les directives officielles en vigueur.

## 5 ECHANTILLON

Sérum peut être utilisé pour ce test.

Ne pas utiliser des échantillons hémolysés, ictériques ou lipémiques.

*Remarque* : Les échantillons contenant de l'azide de sodium ne doivent pas être utilisés pour ce test.

### 5.1 Prélèvement et préparation des échantillons

#### Sérum:

Prélever le sang par ponction veineuse (ex. Sarstedt Monovette # 02.1388.001), laisser coaguler, puis séparer le sérum par centrifugation à température ambiante. Ne pas centrifuger avant que la coagulation ne soit terminée. Les patients sous traitement anti-coagulant peuvent demander un temps de coagulation plus important.

### 5.2 Conservation des échantillons

Les tubes contenant les échantillons doivent être fermés et peuvent être stockés jusqu'à 24 heures à 2 °C à 8 °C avant d'être testés.

Les échantillons stockés pour un temps prolongé doivent être congelés à -20 °C avant d'être testés. Les échantillons décongelés doivent être retournés plusieurs fois avant le test.

### 5.3 Dilution de l'échantillon

Si, lors d'un test préliminaire, la concentration de l'échantillon se révèle être supérieure à celle du calibrateur le plus concentré, alors l'échantillon doit être dilué avec le *Calibrateur 0* et testé de nouveau, comme décrit dans Réalisation du test.

Pour le calcul des concentrations, ce facteur de dilution doit être pris en considération.

#### Exemple:

a) dilution 1:10: 10 µL Sérum + 90 µL *Calibrateur 0* (bien mélanger).

b) dilution 1:100: 10 µL dilution a) 1:10 + 90 µL *Calibrateur 0* (bien mélanger).

## 6 RÉALISATION DU TEST

### 6.1 Remarques générales

- Tous les réactifs et échantillons doivent être amenés à température ambiante avant utilisation. Tous les réactifs doivent être mélangés, sans formation de mousse.
- Une fois la procédure engagée, toutes les étapes doivent être réalisées sans interruption.
- Utiliser un nouveau cône de pipette pour chaque calibrateur, contrôle ou échantillon, ceci afin d'éviter toute contamination.
- L'absorbance est fonction du temps d'incubation et de la température. Avant de commencer le test, il est recommandé de préparer tous les réactifs, bouchons ouverts, de préparer les puits des microplaques, etc. Cela garantira un intervalle de temps équivalent entre chaque étape, sans interruption.
- En règle générale, la réaction enzymatique est linéairement proportionnelle au temps et à la température.

### 6.2 Réalisation du dosage

Chaque test doit inclure une courbe étalon.

1. Disposer le nombre de puits de micro-titration désiré dans le support.
2. Déposer **25 µL** de chaque **Calibrateur**, **Control** et les **échantillons**, avec de nouveaux cônes de pipette, dans les puits appropriés.
3. Incuber pendant **5 minutes** à température ambiante.
4. Déposer **200 µL d'Enzyme Conjugate** dans chaque puits.
5. Bien mélanger pendant 10 secondes. Il est important d'obtenir un mélange parfait lors de cette étape.
6. Incuber pendant **60 minutes** à température ambiante.
7. Décanter le contenu des puits et rincer les puits **3 fois** avec de la solution de lavage diluée (400 µL par puits). Tapoter les puits sur du papier absorbant afin d'éliminer les gouttelettes résiduelles.  
**Remarque importante:**  
La sensibilité et la précision de ce test sont fortement dépendantes de la bonne réalisation des étapes de lavage !
8. Ajouter **200 µL** de **Substrate Solution** à chaque puits.
9. Incuber pendant **30 minutes** à température ambiante.
10. Stopper la réaction enzymatique en ajoutant **100 µL** de **Stop Solution** à chaque puits.
11. Lire la densité optique à **450±10 nm** à l'aide d'un spectrophotomètre lecteur de micro-plaques **dans les 10 minutes** après avoir ajouté la **Stop Solution**.

### 6.3 Calcul des résultats

1. Calculer les valeurs moyennes des densités optiques pour chaque série de calibrateurs, contrôles et échantillons.
2. Etablir la courbe étalon en reportant la densité optique moyenne de chaque valeur standard en fonction de sa concentration, en posant la densité optique en axe des ordonnées et la concentration en axe des abscisses.
3. L'utilisation de la densité optique moyenne pour chaque échantillon détermine la concentration correspondante à partir de la courbe étalon.
4. Méthode automatique. Les résultats dans le IFU ont été calculés de façon automatique en utilisant une courbe de régression 4 PL (4 Parameter Logistics). D'autres fonctions logistiques peuvent donner des résultats légèrement différents.
5. La concentration des échantillons peut être lue directement à partir de cette courbe étalon. Les échantillons avec une concentration supérieure à celle du plus haut standard doivent être dilués de nouveau. Pour le calcul des concentrations, ce facteur de dilution doit être pris en considération.

#### 6.3.1 Exemple d'une courbe calibrateur typique

Les résultats suivants sont ici présentés à titre d'exemple et **ne peuvent** être utilisés au moment de l'essai.

Calibrateur	Unités optiques (450 nm)
Calibrateur 0 (0 ng/mL)	1,89
Calibrateur 1 (0,15 ng/mL)	1,51
Calibrateur 2 (0,5 ng/mL)	1,1
Calibrateur 3 (1,5 ng/mL)	0,69
Calibrateur 4 (3,0 ng/mL)	0,46
Calibrateur 5 (7,5 ng/mL)	0,28
Calibrateur 6 (20 ng/mL)	0,18

## 7 VALEURS ATTENDUES

Il est fortement recommandé à chaque laboratoire de déterminer ses propres valeurs normales ou anormales.

Dans une étude à l'aide du kit DIASOURCE 17- $\alpha$ -OH Progesterone ELISA, les valeurs suivantes sont observées :

Nouveaux-nés	sexe féminin	sexe masculin	féminin et masculin
1. mois après naissance	2.4 - 16.8 ng/mL	0.0 - 8.0 ng/mL	0 - 16.8 ng/mL
2. mois après naissance	1.6 - 9.7 ng/mL	3.6 - 13.7 ng/mL	1.9 - 9.8 ng/mL
3. mois après naissance	0.1 - 3.1 ng/mL	1.7 - 4.0 ng/mL	0.1 - 4.0 ng/mL

Enfants	3 - 14 years	0.07 - 1.7 ng/mL
Femmes en âge de reproduire	Phase folliculaire	0.1 - 0.8 ng/mL
	Phase lutéale	0.6 - 2.3 ng/mL
	Ovulation	0.3 - 1.4 ng/mL
	Post ACTH	< 3.2 ng/mL
	Troisième semestre	2.0 - 12 ng/mL
	Femme post-ménauposée	0.13 - 0.51 ng/mL
Hommes normaux		0.5 - 2.1 ng/mL

## 8 CONTROLE DE QUALITE

Il est recommandé d'utiliser les échantillons contrôles selon les réglementations nationales en vigueur. L'utilisation des échantillons contrôles est recommandée afin de s'assurer jour après jour de la validité des résultats. Utiliser les contrôles de valeurs normales et pathologiques.

Les contrôles et les résultats correspondants issus du laboratoire QC sont mentionnés dans le certificat QC fourni avec le kit. Les valeurs et les limites mentionnées sur la fiche QC font toujours référence au lot de kit courant et doivent être utilisées pour une comparaison directe avec les résultats.

Il est également recommandé d'utiliser les programmes d'évaluation de qualité nationaux ou internationaux, afin de s'assurer de l'exactitude des résultats.

Utiliser les méthodes d'analyses statistiques appropriées pour l'analyse des valeurs contrôles et des tendances. Si les résultats ne correspondent pas aux limites établies des contrôles, les résultats concernant ces patients doivent être considérées comme non valides.

Dans ce cas, tester les zones techniques suivantes : mécanisme de pipetage et temps; spectrophotomètre, dates d'expiration des réactifs, conditions de stockage et d'incubation, méthodes d'aspiration et de lavage.

Après avoir testé les points mentionnés, si aucune erreur n'est détectée, contacter votre distributeur ou directement DIASource.

## 9 CARACTERISTIQUES DU TEST

### 9.1 Zone de mesure

Les limites du dosage sont comprises entre 0,034 – 20 ng/mL.

### 9.2 Spécificité des anticorps (Réaction croisée)

Voir le manuel d'utilisateur en version anglaise.

### 9.3 Sensibilité de l'analyse

La sensibilité de l'analyse a été calculée à partir de la moyenne la plus faible de deux déviations standards de l'analyse de vingt réplicats du *Calibrateur 0* et a été mesurée à 0,034 ng/mL.

Pour

### 9.4 Précision

### 9.5 Recouvrement

### 9.6 Linéarité

Voir le manuel de l'utilisateur en version anglaise.

## 10 LIMITES D'UTILISATION

Toute utilisation impropre des échantillons ou toute modification du test peut influencer les résultats.

### 10.1 Substances parasites

L'hémoglobine (jusqu'à 4 mg/mL), la bilirubine (jusqu'à 0.5 mg/mL) et les triglycérides (jusqu'à 7,5 mg/mL) n'ont aucune influence sur les résultats du dosage.

### 10.2 Drogues parasites

Jusqu'à présent, nous ne connaissons aucune substance (drogues) capable d'influencer la mesure de 17- $\alpha$ -OHP dans un échantillon.

### 10.3 Effet de surdosage

Aucun effet de surdose n'a été observé avec ce test.

## 11 ASPECTS LEGAUX

### 11.1 Fiabilité des résultats

Ce test doit être exactement utilisé selon les instructions d'utilisation du fabricant. De plus, les utilisateurs doivent strictement respecter les règles de la bonne pratique de laboratoire, ou autres lois nationales. Cela est spécialement le cas pour l'utilisation des réactifs contrôles. Pour chaque test, il est important d'inclure un nombre suffisant de contrôles, afin de pouvoir valider l'exactitude et la précision du test.

Les résultats du test sont valides si et seulement si tous les contrôles sont compris dans les gammes de mesure mentionnées et si tous les autres paramètres du test sont également compris dans les instructions de ce test. En cas de doute ou d'inquiétude, contacter DIAsource.

### 11.2 Conséquences thérapeutiques

Les suites thérapeutiques ne devront jamais être basées sur les résultats de laboratoire seuls, même si tous les résultats du test sont en accord avec les points mentionnés dans le paragraphe 11.1. Tout résultat n'est qu'une partie du tableau clinique complet d'un patient.

Les suites thérapeutiques peuvent découler des résultats de laboratoire si et seulement si ceux-ci sont en accord avec l'ensemble du tableau clinique du patient.

Le résultat du test en lui-même ne doit en aucun cas être le seul déterminant des suites thérapeutiques à suivre.

### 11.3 Responsabilité

Toute modification du kit et / ou échange ou mélange d'un des composants de différents lots, d'un kit à un autre, pourrait affecter de façon négative les résultats attendus et la validité du test dans son ensemble. De telles modifications ou échanges invalident toute réclamation pour remplacement.

Toutes les réclamations soumises, relatives au paragraphe 11.2, et dues à une mauvaise interprétation des résultats de laboratoire de la part du client sont également invalides. Néanmoins, en cas de réclamation, la responsabilité du fabricant n'est pas de dépasser les limites de la valeur du kit. Tout dommage causé au kit lors de son transport n'est pas du ressort de la responsabilité du fabricant.

## 12 REFERENCES / BIBLIOGRAPHIE

Voir le manuel de l'utilisateur en version anglaise.

Revision date: 2012-06-04

	<b>Used symbols</b>
	Consult instructions for use
	Storage temperature
	Use by
<b>LOT</b>	Batch code
<b>REF</b>	Catalogue number
<b>CONTROL</b>	Control
<b>I V D</b>	In vitro diagnostic medical device
	Manufacturer
	Contains sufficient for <n> tests
WASH SOLN CONC	Wash solution concentrated
CAL 0	Zero calibrator
CAL N	Calibrator #
CONTROL N	Control #
Ag 125I	Tracer
Ab 125I	Tracer
Ag 125I CONC	Tracer concentrated
Ab 125I CONC	Tracer concentrated
	Tubes
INC BUF	Incubation buffer
ACETONITRILE	Acetonitrile
SERUM	Serum
DIL SPE	Specimen diluent
DIL BUF	Dilution buffer
ANTISERUM	Antiserum
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbent
DIL CAL	Calibrator diluent
REC SOLN	Reconstitution solution
PEG	Polyethylene glycol
EXTR SOLN	Extraction solution
ELU SOLN	Elution solution
GEL	Bond Elut Silica cartridges
PRE SOLN	Pre-treatment solution
NEUTR SOLN	Neutralization solution
TRACEUR BUF	Tracer buffer
<b>µT</b>	Microtiterplate
Ab HRP	HRP Conjugate
Ag HRP	HRP Conjugate
Ab HRP CONC	HRP Conjugate concentrate
Ag HRP CONC	HRP Conjugate concentrate
CONJ BUF	Conjugate buffer
CHROM TMB CONC	Chromogenic TMB concentrate
CHROM TMB	Chromogenic TMB solution
SUB BUF	Substrate buffer
STOP SOLN	Stop solution
INC SER	Incubation serum
BUF	Buffer
Ab AP	AP Conjugate
SUB PNPP	Substrate PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotin conjugate concentrate
PREC AGENT	Precipitating Agent
AVID HRP CONC	Avidine HRP concentrate
ASS BUF	Assay buffer
Ab BIOT	Biotin conjugate
Ab	Specific Antibody
SAV HRP CONC	Streptavidin HRP concentrate
NSB	Non-specific binding
2nd Ab	2nd Antibody
ACID BUF	Acidification Buffer
DIST	Distributor
TRAY	Incubation trays
PMSF	PMSF solution
	Protect from light
STRIP	Dot Strip
SUB	Substrate
EXTR SOLN CONC	Extraction Buffer Concentrate
CART	Cartridge
SAV HRP	Streptavidin HRP
PIPETTE	Pipette
WASH SOLN	Wash buffer

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

	<b>Symboles utilisés</b>
	Consulter les instructions d'utilisation
	Température de conservation
	Utiliser jusque
<b>LOT</b>	Numéro de lot
<b>REF</b>	Référence de catalogue
<b>CONTROL</b>	Contrôle
<b>I V D</b>	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Fabricant
	Contenu suffisant pour <n> tests
WASH SOLN CONC	Solution de lavage concentrée
CAL 0	Calibrateur zéro
CAL N	Calibrateur #
CONTROL N	Contrôle #
Ag 125I	Traceur
Ab 125I	Traceur
Ag 125I CONC	Traceur concentré
Ab 125I CONC	Traceur concentré
	Tubes
INC BUF	Tampon d'incubation
ACETONITRILE	Acétonitrile
SERUM	Sérum
DIL SPE	Diluant du spécimen
DIL BUF	Tampon de dilution
ANTISERUM	Antisérum
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbant
DIL CAL	Diluant de calibrateur
REC SOLN	Solution de reconstitution
PEG	Glycol Polyéthylène
EXTR SOLN	Solution d'extraction
ELU SOLN	Solution d'elution
GEL	Cartouches Bond Elut Silica
PRE SOLN	Solution de pré-traitement
NEUTR SOLN	Solution de neutralisation
TRACEUR BUF	Tampon traceur
<b>U U</b>	Microplaque de titration
Ab HRP	HRP Conjugué
Ag HRP	HRP Conjugué
Ab HRP CONC	HRP Conjugué concentré
Ag HRP CONC	HRP Conjugué concentré
CONJ BUF	Tampon conjugué
CHROM TMB CONC	Chromogène TMB concentré
CHROM TMB	Solution chromogène TMB
SUB BUF	Tampon substrat
STOP SOLN	Solution d'arrêt
INC SER	Sérum d'incubation
BUF	Tampon
Ab AP	AP Conjugué
SUB PNPP	Tampon PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotine conjugué concentré
PREC AGENT	Agent de précipitation
AVID HRP CONC	Avidine HRP concentré
ASS BUF	Tampon de test
Ab BIOT	Biotine conjugué
Ab	Anticorps spécifique
SAV HRP CONC	Concentré streptavidine HRP
NSB	Liant non spécifique
2nd Ab	Second anticorps
ACID BUF	Tampon d'acidification
DIST	Distributeur
TRAY	Plaque d'incubation
PMSF	Solution PMSF
	Conserver à l'abri de la lumière
STRIP	Bandelette de dots
SUB	Substrat
EXTR SOLN CONC	Tampon d'extraction concentré
CART	Cartouche
SAV HRP	Streptavidine-peroxydase de raiport
PIPETTE	Pipette
WASH SOLN	Tampon de lavage