



17 OH-PROGESTERONE ELISA

KAPD1292



History

Summary of change :

| Previous Version : | Current Version : | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|------------------------|------------------------|------|---------------------------|------|--------------------------|-----|--------------------------|------|--------------------------|------|---|------------|------------------------|------------------------|------|---------------------------|------|--------------------------|------|--------------------------|------|--------------------------|------|
| 200831 | 210208 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>2 PRINCIPLE OF THE TEST The DIAsource 17-α-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 α OHP molecule. Endog-enous 17-α-OHP of a patient sample competes with a 17-α-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-α-OHP in the sample. After addition of the substrate solution, the intensity of colour developed is inversely proportional to the concentration of 17-α-OHP in the patient sample.</p> | <p>2 PRINCIPLE OF THE TEST The DIAsource 17-OH Progesterone ELISA is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), based on the principle of competitive binding. The microtiter wells are coated with a polyclonal [rabbit] antibody directed towards antigenic sites of the 17 α OHP molecule. Samples are pre-incubated in the coated wells. During the second incubation, 17-α-OHP in the added sample competes with the added enzyme conjugate, which is 17 α OHP conjugated to horseradish peroxidase, for binding to the coated antibody. After a washing step to remove all unbound substances, the solid phase is incubated with the substrate solution. The colorimetric reaction is stopped by addition of stop solution, and optical density (OD) of the resulting yellow product is measured. The intensity of colour is inversely proportional to the concentration of the analyte in the sample. A standard curve is constructed by plotting OD values against concentrations of standards, and concentrations of unknown samples are determined using this standard curve.</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>4.1 Contents of the Kit No indication of calibration for the calibrators</p> | <p>4.1 Contents of the Kit The calibrators are calibrated against the following reference material: Certified Reference Material Cerilliant H-085</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>4.4 Preparation of Reagents The diluted Wash Solution is stable for 2 weeks at room temperature.</p> | <p>4.4 Preparation of Reagents The diluted Wash Solution is stable for 1 weeks at room temperature.</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>6.3 Calculation of Results</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Calibrator</th> <th>Optical Units (450 nm)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Calibrator 0 (0 ng/mL)</td> <td>1,89</td> </tr> <tr> <td>Calibrator 1 (0,15 ng/mL)</td> <td>1,51</td> </tr> <tr> <td>Calibrator 2 (0,5 ng/mL)</td> <td>1,1</td> </tr> <tr> <td>Calibrator 3 (1,5 ng/mL)</td> <td>0,69</td> </tr> <tr> <td>Calibrator 4 (3,0 ng/mL)</td> <td>0,46</td> </tr> </tbody> </table> | 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 | <p>6.3 Calculation of Results</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Calibrator</th> <th>Optical Units (450 nm)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Calibrator 0 (0 ng/mL)</td> <td>2.15</td> </tr> <tr> <td>Calibrator 1 (0,15 ng/mL)</td> <td>1.77</td> </tr> <tr> <td>Calibrator 2 (0,5 ng/mL)</td> <td>1.28</td> </tr> <tr> <td>Calibrator 3 (1,5 ng/mL)</td> <td>0.77</td> </tr> <tr> <td>Calibrator 4 (3,0 ng/mL)</td> <td>0.49</td> </tr> </tbody> </table> | Calibrator | Optical Units (450 nm) | Calibrator 0 (0 ng/mL) | 2.15 | Calibrator 1 (0,15 ng/mL) | 1.77 | Calibrator 2 (0,5 ng/mL) | 1.28 | Calibrator 3 (1,5 ng/mL) | 0.77 | Calibrator 4 (3,0 ng/mL) | 0.49 |
| 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 | Optical Units (450 nm) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Calibrator 0 (0 ng/mL) | 2.15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Calibrator 1 (0,15 ng/mL) | 1.77 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Calibrator 2 (0,5 ng/mL) | 1.28 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Calibrator 3 (1,5 ng/mL) | 0.77 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Calibrator 4 (3,0 ng/mL) | 0.49 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

| | | | | | |
|-----------|------------------------------|------|-----------|---|------|
| | Calibrator 5 (7,5 ng/mL) | 0,28 | | Calibrator 5 (7,5 ng/mL) | 0.25 |
| | Calibrator 6 (20 ng/mL) | 0,18 | | Calibrator 6 (20 ng/mL) | 0.12 |
| 9 | ASSAY CHARACTERISTICS | | 9 | ASSAY CHARACTERISTICS Complete new data | |
| 12 | REFERENCES | | 12 | REFERENCES References updated | |



17- α -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-OH Progesterone Enzyme Immunoassay Kit provides materials for the quantitative determination of 17- α -OH Progesterone in serum or plasma (EDTA-, heparin- or citrate plasma). This assay is intended for in vitro diagnostic use only.

The steroid 17- α -Hydroxyprogesterone (17- α -OHP) is produced by both the adrenal cortex and gonads. Even though 17- α -OHP has relatively low 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- α -OHP, measurement of 17- α -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- α -OHP is secreted in abundant excess. It is moderately elevated in the 11- β -hydroxylase deficiency as well. Measurement of 17- α -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- α -OHP concentrations vary over the menstrual cycle with luteal phase concentrations being higher than follicular phase concentrations. This is because 17- α -OHP is secreted in parallel with progesterone from maturing follicles or from the corpus luteum. There is also a diurnal variation of 17- α -OHP concentrations.

This rhythm is parallel with adrenal cortisol secretion such that maximum 17- α -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- α -OHP concentration in adult males.

Pregnant women and newborn children:

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

Because 17- α -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- α -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- α -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- α -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-OH Progesterone ELISA is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), based on the principle of competitive binding.

The microtiter wells are coated with a polyclonal [rabbit] antibody directed towards antigenic sites of the 17 α OHP molecule.

Samples are pre-incubated in the coated wells.

During the second incubation, 17- α -OHP in the added sample competes with the added enzyme conjugate, which is 17 α OHP conjugated to horseradish peroxidase, for binding to the coated antibody.

After a washing step to remove all unbound substances, the solid phase is incubated with the substrate solution. The colorimetric reaction is stopped by addition of stop solution, and optical density (OD) of the resulting yellow product is measured. The intensity of colour is inversely proportional to the concentration of the analyte in the sample.

A standard curve is constructed by plotting OD values against concentrations of standards, and concentrations of unknown samples are determined using this standard curve.

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°C to 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 microtiter plate 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 H₂SO₄. 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

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

 12x8 (break apart) strips, 96 wells
 Wells coated with Anti-17- α -OH Progesterone antibody (polyclonal)
- | | |
|-----|---|
| CAL | N |
|-----|---|

 N=1 to 6, Reference Calibrator Set, 6 vials, 1 ml each
 The calibrators are calibrated against the following reference material: Certified Reference Material Cerilliant H-085
 Contains non-mercury preservative
 See exact values on vial labels
 Conversion : ng/mL x 3.03 = nmol/L
- | | |
|-----|---|
| CAL | 0 |
|-----|---|

 Zero Calibrator, 1 vial, 1 ml
 Contains non-mercury preservative
- | | |
|---------|---|
| 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
- | | |
|----|-----|
| Ag | HRP |
|----|-----|

 1 vial, 25 ml, ready to use
 17- α -OH Progesterone conjugated to horseradish peroxidase
 Contains non-mercury preservative
- | | |
|-------|-----|
| CHROM | TMB |
|-------|-----|

 (Substrate Solution) 1 vial, 25ml, ready to use
 TMB
- | | |
|------|------|
| STOP | SOLN |
|------|------|

 1 vial, 14 ml
 contains 0.5M H₂SO₄
 Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.
- | | | |
|------|------|------|
| 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 two months 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 1 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 or plasma (EDTA-, heparin- or citrate plasma) 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 for serum), 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.

Plasma:

Whole blood should be collected into centrifuge tubes containing anti-coagulant (e.g. Sarstedt Monovette with the appropriate plasma preparation) and centrifuged immediately after collection.

5.2 Specimen Storage

Specimens should be capped and may be stored for up to 7 days 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 reassayed 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 \pm 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 Instructions For Use have been calculated automatically using a 4 Parameter curve fit. (4 Parameter Rodbard or 4 Parameter Marquardt are the preferred methods.) 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- α -OH Progesterone ELISA.

| Calibrator | Optical Units (450 nm) |
|---------------------------|------------------------|
| Calibrator 0 (0 ng/mL) | 2.15 |
| Calibrator 1 (0,15 ng/mL) | 1.77 |
| Calibrator 2 (0,5 ng/mL) | 1.28 |
| Calibrator 3 (1,5 ng/mL) | 0.77 |
| Calibrator 4 (3,0 ng/mL) | 0.49 |
| Calibrator 5 (7,5 ng/mL) | 0.25 |
| Calibrator 6 (20 ng/mL) | 0.12 |

7 EXPECTED VALUES

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

In a study conducted with newborns and children, using the DIAsource 17-OH Progesterone ELISA, the following values are observed:

| Newborns (boys and girls) | n | | Range (min - max) (ng/mL) | Mean (ng/mL) | Median (ng/mL) | 2.5 th - 97.5 th Percentile (ng/mL) |
|---------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|-----------------|-------------------|--|
| | 26 | 1 st month after birth | | 0 - 17.3 | 7.2 | 6.7 |
| 43 | 2 nd month after birth | | 0.32 - 13.7 | 4.9 | 4.6 | 1.6 - 9.8 |
| 21 | 3 rd month after birth | | 0.06 - 4.2 | 2.3 | 2.3 | 0.5 - 4.1 |
| 12 | 4 th month after birth | | 0.2 - 4.6 | 2.1 | 2.3 | 0.2 - 4.3 |

| | n | Age (years) | Range (min - max) (ng/mL) | Mean (ng/mL) | Median (ng/mL) | 2.5 th - 97.5 th Percentile (ng/mL) |
|-------------------|----|-------------|------------------------------|-----------------|-------------------|--|
| Children | 75 | 1 - 10 | 0.03 - 2.85 | 1.04 | 0.88 | 0.08 - 2.58 |
| Adolescent | 3 | 11 - 14 | 0.06 - 1.38 | 0.65 | 0.50 | 0.07 - 1.34 |
| | 10 | 15 - 18 | 0.41 - 2.35 | 1.24 | 1.26 | 0.42 - 2.26 |

In a study conducted with apparently normal healthy donors, using the DIAsource 17-OH Progesterone ELISA, the following values are observed:

| | | |
|----------------------|------------------|-------------------|
| Adult females | 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 | 0.13 - 0.51 ng/mL |
| Adult males | | 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 0.042 – 20 ng/mL.

9.2 Specificity of Antibodies (Cross Reactivity)

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

| Substance | Conc. Range (ng/mL) | Mean Bias (ng/mL) | Mean Bias % |
|------------------------|---------------------|-------------------|-------------|
| 17-Benzoate Estradiol | 2 - 2000 | 0.05 | < 0.01 |
| 17-Cypionate Estradiol | 2 - 2000 | < 0.01 | < 0.01 |
| 17-Valerate Estradiol | 2 - 2000 | < 0.01 | < 0.01 |
| Aldosterone | 2 - 2000 | 0.06 | < 0.01 |
| Androstenedione | 2 - 2000 | < 0.01 | < 0.01 |
| Corticosterone | 2 - 200 | < 0.01 | < 0.01 |
| Cortisol | 2 - 200 | < 0.01 | < 0.01 |
| Cortisone | 2 - 200 | < 0.01 | < 0.01 |
| DHEA | 2 - 2000 | < 0.01 | < 0.01 |
| DHEA-S(a) | 2 - 2000 | < 0.01 | < 0.01 |
| Estradiol | 2 - 2000 | < 0.01 | < 0.01 |
| Estriol | 2 - 2000 | < 0.01 | < 0.01 |
| Estrone | 2 - 2000 | < 0.01 | < 0.01 |
| Progesterone | 2 - 20 | 0.05 | 1.31 |
| Testosterone | 2 - 2000 | < 0.01 | < 0.01 |

9.3 Analytical Sensitivity

The analytical sensitivity of the Diasource ELISA was calculated by subtracting 2 standard deviations from the mean OD of 20 replicate analyses of Standard 0 and was found to be 0.013 ng/mL.

The Limit of Blank (LoB) is 0.006 ng/mL.

The Limit of Detection (LoD) is 0.042 ng/mL.

The Limit of Quantification (LoQ) is 0.156 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 (Li-Heparin plasma) | 10 | 0.23 | 4.6 |
| 2 (Serum) | 10 | 2.10 | 4.0 |
| 3 (Serum) | 10 | 7.74 | 3.0 |
| 4 (Citrate plasma) | 10 | 12.11 | 4.2 |

9.4.2 Inter Assay Variation

The between assay variability is shown below:

| Sample | n | Mean (ng/mL) | CV (%) |
|-----------------------|----|--------------|--------|
| 1 (Li-Heparin plasma) | 30 | 0.21 | 8.7 |
| 2 (Serum) | 30 | 1.99 | 6.3 |

| | | | |
|--------------------|----|-------|-----|
| 3 (Serum) | 30 | 7.41 | 6.3 |
| 4 (Citrate plasma) | 30 | 11.53 | 6.2 |

9.5 Recovery

Samples have been spiked by adding 17- α -OHP solutions with known concentrations. The recovery (%) was calculated by multiplying the ratio of measured and expected values with 100.

| | Li-Heparin plasma | Citrate plasma | EDTA plasma | Serum |
|-----------------------|-------------------|----------------|-------------|-------|
| Concentration (ng/mL) | 0.17 | 0.46 | 0.72 | 1.92 |
| Average Recovery (%) | 97.9 | 96.0 | 95.7 | 93.8 |
| Range of Recovery (%) | from | 92.6 | 89.2 | 93.3 |
| | to | 103.8 | 103.2 | 98.6 |

9.6 Linearity

Samples were measured undiluted and in serial dilutions with standard 0. The recovery (%) was calculated by multiplying the ratio of expected and measured values with 100.

| | Citrate plasma | Serum | EDTA plasma | Li-Heparin plasma |
|-----------------------|----------------|-------|-------------|-------------------|
| Concentration (ng/mL) | 1.31 | 6.99 | 10.90 | 15.20 |
| Average Recovery (%) | 104.1 | 104.0 | 108.0 | 105.7 |
| Range of Recovery (%) | from | 93.9 | 92.2 | 102.4 |
| | to | 111.4 | 108.8 | 113.8 |

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

| Substance | Concentration | Mean Bias |
|----------------------|---------------|-----------|
| | ng/mL | ng/mL |
| Coumestrol | 5 – 500 | -0.34 |
| Daidzein | 5 – 500 | 0.59 |
| Ethisterone | 23.4 – 2340 | -0.48 |
| Fulvestrant | 5 – 500 | -0.11 |
| Genistein | 5 – 500 | 0.28 |
| Levonorgestrel | 0.2 – 20 | 0.27 |
| Mifepristone | 23.4 – 2340 | -0.53 |
| Prednisolone | 0.2 – 20 | -0.12 |
| Prednisone | 0.2 – 20 | -0.59 |
| Secoisolariciresinol | 5 – 500 | 0.23 |

Daidzein will increase the measured 17-OH Progesterone concentration in a sample on average by more than 0.5 ng/mL. Mifepristone and Prednisolone will decrease the measured 17-OH Progesterone concentration in a sample on average by more than 0.5 ng/mL. All other tested substances will not change the 17-OH Progesterone concentration by more than ± 0.5 ng/mL.

10.3 High-Dose-Hook Effect

"High Dose Hook Effect" is not detected in the range between 0 - 640 ng/mL.

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. Chrousos GP et al. Late onset 21-hydroxylase deficiency mimicking idiopathic hirsutism or polycystic ovarian disease. *Annals Intern Med.* 1982; 96,143-148.
2. Choi J-H, and Yoo H-W. Management issues of congenital adrenal hyperplasia during transition from pediatric to adult care. *Korean J. Pediatr.* 2017; 60(2), 31-37.
3. Eisenhoefer G et al. Reference intervals for plasma concentrations of adrenal steroids measured by LC-MS/MS: Impact of gender, age, oral contraceptives, body mass index and blood pressure status. *Clin. Chim Acta.* 2017; 470, 115-124.
4. Honour JW. 17-Hydroxyprogesterone in children, adolescents and adults. *Annals of Clinical Biochemistry,* 2014; 51(4), 424-440.
5. Hughes IA, Riad-Fahmy D, and Griffith K. Plasma 17OH-progesterone concentrations in newborn infants. *Archives of Disease in Childhood.* 1979; 54, 347-349.
6. Ishii T et al. Guidelines for diagnosis and treatment of 21-hydroxylase deficiency (2014 revision). *Clin. Pediatr. Endocrinol.* 2015; 24(3), 77-105.
7. Kang MJ et al. Relationships of basal level of serum 17-hydroxyprogesterone with that of serum androstenedione and their stimulated responses to a low dose of ACTH in young adult patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J. Korean Med. Sci.* 2011; 26(11), 1454-60.
8. Maas KH et al. Relationship between 17-Hydroxyprogesterone responses to human chorionic gonadotropin and markers of ovarian follicle morphology in women with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2015; 100(1), 293-300.

Other translations of this Instructions for Use can be downloaded from our website: <https://www.diasource-diagnostics.com/>

Revision date: 2021-02-08



17- α -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-OH Progesterone ELISA propose les matériaux requis pour la mesure quantitative de 17- α -hydroxyprogestérone (17- α -OHP) dans le sérum ou plasma (EDTA-, Héparine- ou citrate plasma). Ce kit est à utiliser uniquement dans le cadre de tests diagnostiques in vitro.

2 PRINCIPE DU TEST

Le kit Diasource 17-OH Progesterone ELISA est un test immuno-enzymatique en phase solide (ELISA basé sur le principe de liaison compétitive).

Les puits de microtitration sont recouverts d'un anticorps polyclonal [lapin] dirigé contre les sites antigéniques de la molécule de 17- α -OHP. Les échantillons sont pré-incubés dans les puits revêtus.

Au cours de la seconde incubation, la 17- α -OHP présente dans l'échantillon ajouté entre en compétition avec le conjugué enzymatique ajouté, qui est la 17- α -OHP conjugué à la peroxydase de raifort (HRP), pour se fixer à l'anticorps enrobé.

Après une étape de lavage pour éliminer toutes les substances non liées, la phase solide est incubée avec la solution de substrat. La réaction colorimétrique est arrêtée par l'ajout d'une solution d'arrêt, et la densité optique (DO) du produit jaune résultant est mesurée. L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la concentration de l'analyte dans l'échantillon.


Une courbe standard est construite en traçant les valeurs de DO par rapport aux concentrations des étalons, et les concentrations des échantillons inconnus sont déterminées à l'aide de cette courbe standard..

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 H₂SO₄. 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.

4 KIT COMPONENTS

4.1 Contents of the Kit

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

 N=1 à 6, Set de référence des calibrateurs, 6 flacons, 1 ml
Les calibrateurs sont étalonnés par rapport au matériel de référence suivante: Certified Reference Material Cerilliant H-085
Contient agent de conservation sans mercure
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

4.

| | |
|---------|---|
| 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
5.

| | |
|----|-----|
| Ag | HRP |
|----|-----|

 1 flacon, 25 ml, prêt à l'emploi
17- α -OH Progesterone conjugué à la HRP
Contient agent de conservation sans mercure
6.

| | |
|-------|-----|
| CHROM | TMB |
|-------|-----|

 (Solution Substrat) 1 flacon, 25ml, prêt à l'emploi
Tétraméthylbenzidine :TMB
7.

| | |
|------|------|
| STOP | SOLN |
|------|------|

 (Solution d'arrêt) 1 flacon, 14 ml
Contient 0.5 M de H₂SO₄
Eviter les contacts avec la solution stop. Cela pourrait engendrer irritations ou brûlures de la peau..
8.

| | | |
|------|------|------|
| 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 2 mois 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 une semaine 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 ou plasma (EDTA-, Héparine- ou citrate plasma) peuvent être utilisés 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 pour sérum), 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.

Plasma:

Le sang total doit être prélevé dans des tubes de centrifugation contenant un anti-coagulant (Sarstedt Monovette avec une préparation appropriée de plasma) et centrifugé immédiatement après le prélèvement.

5.2 Conservation des échantillons

Les tubes contenant les échantillons doivent être fermés et peuvent être stockés jusqu'à 7 jours 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 les instructions d'utilisation ont été calculés de façon automatique en utilisant une courbe de régression 4 Paramètres (4 paramètres Rodbard ou 4 paramètres Marquardt sont les méthodes favorites.) 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) | 2,15 |
| Calibrateur 1 (0,15 ng/mL) | 1,77 |
| Calibrateur 2 (0,5 ng/mL) | 1,28 |
| Calibrateur 3 (1,5 ng/mL) | 0,77 |
| Calibrateur 4 (3,0 ng/mL) | 0,49 |
| Calibrateur 5 (7,5 ng/mL) | 0,25 |
| Calibrateur 6 (20 ng/mL) | 0,12 |

7 VALEURS ATTENDUES

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

Dans une étude menée sur des nouveau-nés et des enfants, à l'aide du kit DIAsource 17-OH Progesterone ELISA, les valeurs suivantes sont observées:

| Nouveau-nés (féminine et masculin) | n | | Portée (min. - max.) (ng/mL) | Valeur moyenne (ng/mL) | Médiane (ng/mL) | 2,5. - 97,5. Per- centile (ng/mL) |
|---------------------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------------------|------------------------------|--------------------|---|
| | 26 | 1. mois après naissance | | 0 - 17,3 | 7,2 | 6,7 |
| 43 | 2. mois après naissance | | 0,32 - 13,7 | 4,9 | 4,6 | 1,6 - 9,8 |
| 21 | 3. mois après naissance | | 0,06 - 4,2 | 2,3 | 2,3 | 0,5 - 4,1 |
| 12 | 4. mois après naissance | | 0,2 - 4,6 | 2,1 | 2,3 | 0,2 - 4,3 |

| | n | Age (ans) | Portée (min. - max.) (ng/mL) | Valeur moyenne (ng/mL) | Médiane (ng/mL) | 2,5. - 97,5. Per- centile (ng/mL) |
|--------------------|----|-----------|------------------------------------|------------------------------|--------------------|---|
| Enfants | 75 | 1 - 10 | 0,03 - 2,85 | 1,04 | 0,88 | 0,08 - 2,58 |
| Adolescents | 3 | 11 - 14 | 0,06 - 1,38 | 0,65 | 0,50 | 0,07 - 1,34 |
| | 10 | 15 - 18 | 0,41 - 2,35 | 1,24 | 1,26 | 0,42 - 2,26 |

Dans une étude menée sur des sujets apparemment sains, à l'aide du kit DIAsource 17-OH Progesterone ELISA, les valeurs suivantes sont observées:

| | | |
|------------------------------------|-----------------------|-------------------|
| 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-ménopausée | 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 recommandé 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

Consultez la version anglaise détaillée du mode d'emploi.

9.2 Spécificité des anticorps (Réaction croisée)

Consultez la version anglaise détaillée du mode d'emploi.

9.3 Sensibilité de l'analyse

Consultez la version anglaise détaillée du mode d'emploi.

9.4 Précision

Consultez la version anglaise détaillée du mode d'emploi.

9.5 Recouvrement

Consultez la version anglaise détaillée du mode d'emploi.

9.6 Linéarité

Consultez la version anglaise détaillée du mode d'emploi.

10 LIMITES D'UTILISATION

Des résultats fiables et reproductibles seront obtenus lorsque la procédure de test est effectuée avec une compréhension complète de la notice et en respectant les bonnes pratiques de laboratoire.

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

Consultez la version anglaise détaillée du mode d'emploi.

10.3 Effet de surdosage

Un «effet de Hook» n'est pas détecté dans la plage comprise entre 0 et 640 ng/mL.

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 contrôlés. 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

1. Chrousos GP et al. Late onset 21-hydroxylase deficiency mimicking idiopathic hirsutism or polycystic ovarian disease. *Annals Intern Med.* 1982; 96,143-148.
2. Choi J-H, and Yoo H-W. Management issues of congenital adrenal hyperplasia during transition from pediatric to adult care. *Korean J. Pediatr.* 2017; 60(2), 31-37.
3. Eisenhoefer G et al. Reference intervals for plasma concentrations of adrenal steroids measured by LC-MS/MS: Impact of gender, age, oral contraceptives, body mass index and blood pressure status. *Clin. Chim Acta.* 2017; 470, 115-124.
4. Honour JW. 17-Hydroxyprogesterone in children, adolescents and adults. *Annals of Clinical Biochemistry,* 2014; 51(4), 424-440.
5. Hughes IA, Riad-Fahmy D, and Griffith K. Plasma 17OH-progesterone concentrations in newborn infants. *Archives of Disease in Childhood.* 1979; 54, 347-349.
6. Ishii T et al. Guidelines for diagnosis and treatment of 21-hydroxylase deficiency (2014 revision). *Clin. Pediatr. Endocrinol.* 2015; 24(3), 77-105.
7. Kang MJ et al. Relationships of basal level of serum 17-hydroxyprogesterone with that of serum androstenedione and their stimulated responses to a low dose of ACTH in young adult patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J. Korean Med. Sci.* 2011; 26(11), 1454-60.
8. Maas KH et al. Relationship between 17-Hydroxyprogesterone responses to human chorionic gonadotropin and markers of ovarian follicle morphology in women with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2015; 100(1), 293-300.

Revision date: 2021-02-08



17- α -OH Progesterone-ELISA

es**KAPD1292****PARA 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- α -OHP proporciona los materiales necesarios para la determinación cuantitativa del 17- α -Hidroxiprogesterona (17- α -OHP) en o plasma (plasma EDTA, heparina o citrato). Este ensayo está diseñado solo para diagnóstico in vitro.

2 FUNDAMENTO DEL ENSAYO


El kit de Diasource 17-OH Progesterone ELISA es un ensayo en fase sólida de inmunoadsorción unido a enzimas (ELISA), basado en el principio de unión competitiva. Las muestras se preincuban en los pocillos recubiertos. Los pocillos de las placas están recubiertos con un anticuerpo policlonal [conejo] dirigido contra los sitios antigénicos de la molécula de 17- α -OHP.

Durante la incubación, el 17- α -OHP en la muestra agregada compite con el conjugado enzimático agregado, que es 17 α OHP conjugado con peroxidasa de rábano, por unirse al anticuerpo recubierto. Después de un paso de lavado para eliminar todas las sustancias no ligadas, la fase sólida se incuba con la solución de sustrato. La reacción colorimétrica se detiene mediante la adición de la solución de parada, y se mide la densidad óptica (OD) del producto amarillo resultante. La intensidad del color es inversamente proporcional a la concentración del analito en la muestra. Se construye una curva estándar trazando los valores de DO frente a las concentraciones de los estándares, y las concentraciones de las muestras desconocidas se determinan utilizando esta curva estándar.

3 PRECAUCIONES

- Este kit es solamente para diagnóstico in vitro.
- Por favor, se usa solo la versión válida de la metodología técnica incluido aquí en el kit.
- 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.
- Evitar contacto con Stop Solution que contiene H2SO4 0,5 M. Puede provocar irritación y quemaduras en la piel.
- 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.
- 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.
- Las hojas de los datos de seguridad de este producto están disponibles bajo pedido directamente a DIAsource ImmunoAssays S.A.

4 COMPONENTES DEL KIT**4.1. Componentes del Kit**

-  (Placas multipocillo), 12 x 8 tiras separables, 96 pocillos;
Pocillos recubiertos con anticuerpo anti-17- α -OHP (policlonal)
- | | |
|-----|---|
| CAL | N |
|-----|---|

 N=1 hasta 6, (Estándar), 6 viales, 1 ml
 Los calibradores están calibrado contra el siguiente material de referencia: Certified Reference Material Cerilliant H-085
 Contiene conservante sin mercurio.
 Contiene conservante sin mercurio.
 Concentraciones: 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
 Conversión: ng/mL x 3.03 = nmol/L
- | | |
|-----|---|
| CAL | 0 |
|-----|---|

 Calibrador 0, 1 vial, 1 ml
 Contiene conservante sin mercurio.
- | | |
|---------|---|
| 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.

5.

| | |
|----|-----|
| Ag | HRP |
|----|-----|

 1 vial, 25 ml, listo para usar
17- α -OH Progesterone conjugado con la HRP
Contiene conservante sin mercurio.
6.

| | |
|-------|-----|
| CHROM | TMB |
|-------|-----|

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

| | |
|------|------|
| STOP | SOLN |
|------|------|

 (Solución de parada) 1 vial, 14 ml
Contiene 0.5 M de H₂SO₄
Evitar el contacto con la Solución de parada. Puede causar irritación y quemaduras en la piel.
8.

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

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

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

4.2. Equipamiento y material requerido pero no provisto

- Lector de microplacas calibrado (450 \pm 10 nm) (ej. DIASOURCE Instruments Microtiter Plate Reader).
- Micropipetas de precisión variable calibradas.
- Papel absorbente.
- Agua destilada.

4.3. Almacenamiento y estabilidad del kit

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

Los kits abiertos conservan su actividad durante 2 meses 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.

Wash Solution

Mezclar 30 mL de Wash Solution concentrada con 1170 mL de agua desionizada hasta un volumen final de 1200 mL.

La solución del lavado diluida es estable durante 1 semana 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 (ver capítulo 13).

4.6. Kits de ensayo dañados

En caso de que exista cualquier daño severo del kit de ensayo o de sus componentes, ha de informarse por escrito a DIASOURCE, no más tarde de una semana después de recibir el kit. No deben utilizarse componentes dañados para llevar a cabo un ensayo. Han de almacenarse hasta que se encuentre una solución. Después de esto, deben ser eliminados de acuerdo con las leyes oficiales.

5 MUESTRAS

En este ensayo pueden usarse suero o plasma (plasma EDTA, heparina o citrato).

No usar muestras hemolíticas, ictéricas 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 para el suero), 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.

Plasma:

Toda la sangre ha de recogerse en tubos de centrifuga que contengan anticoagulante (Ej. Sarstedt Monovette con una preparación adecuada para el plasma) y centrifugar inmediatamente tras la recogida.

5.2. Almacenamiento de las muestras

Las muestras deben ser tapadas y pueden ser almacenadas hasta 7 días a 2 °C a 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 μ L Suero + 90 μ L Standard 0 (mezclar totalmente)
- b) dilución 1:100: 10 μ L dilución a) 1:10 + 90 μ L Standard 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 Standard, Control y muestras con puntas nuevas en los pocillos adecuados.
3. Incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente
4. Dispensar 200 µL de Enzyme Conjugate 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.
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!

8. Adicionar 200 µL de Substrate Solution a cada pocillo.
9. Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.
10. Parar la reacción enzimática mediante la adición de 100 µL de Stop Solution a cada pocillo.
11. Leer la OD a 450 ± 10 nm con un lector de microplacas dentro de los 10 minutos después de la adición de la Stop Solution.

6.3. Cálculo de los Resultados

1. Calcular los valores de absorbancia media para cada conjunto de estándares, controles y muestras de pacientes.
2. Construir una curva estándar mediante la representación de la absorbancia media obtenida para cada estándar 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 las instrucciones de uso se han calculado automáticamente usando una curva de regresión 4 Parámetros. (4 Parámetros Rodbard o 4 Parámetros Marquardt son los métodos preferidos.) Otras funciones de regresión darán lugar a resultados sensiblemente diferentes.
5. La concentración de la muestra puede leerse directamente de la curva de estándares. Las muestras con concentraciones superiores al mayor estándar han de diluirse. Para el cálculo de las concentraciones hay que tener en cuenta el factor de dilución.

6.3.1. Ejemplo de una Curva Estándar Típica

Los siguientes datos son solamente para la explicación y no pueden ser utilizados en lugar de los datos generados en el momento del ensayo.

| Estándar | Unidades Ópticas (450 nm) |
|-------------------------|---------------------------|
| Standard 0 (0 ng/mL) | 2,15 |
| Standard 1 (0,15 ng/mL) | 1,77 |
| Standard 2 (0,5 ng/mL) | 1,28 |
| Standard 3 (1,5 ng/mL) | 0,77 |
| Standard 4 (3,0 ng/mL) | 0,49 |
| Standard 5 (7,5 ng/mL) | 0,25 |
| Standard 6 (20 ng/mL) | 0,12 |

7 VALORES ESPERADOS

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

En un estudio llevado a cabo con recién nacidos y niños, utilizando el DIAsource 17-oh progesterone elisa se observaron los siguientes valores:

| Recién nacidos (Femenino y masculino) | n | | Rango (min. - max.) (ng/mL) | Media (ng/mL) | Mediana (ng/mL) | Percentil 2,5 - 97,5 (ng/mL) |
|---------------------------------------|----|-----------------------------|-----------------------------|---------------|-----------------|------------------------------|
| | 26 | 1. mes después la natividad | 0 - 17,3 | 7,2 | 6,7 | 1,0 - 17,0 |
| | 43 | 2. mes después la natividad | 0,32 - 13,7 | 4,9 | 4,6 | 1,6 - 9,8 |
| | 21 | 3. mes después la natividad | 0,06 - 4,2 | 2,3 | 2,3 | 0,5 - 4,1 |
| | 12 | 4. mes después la natividad | 0,2 - 4,6 | 2,1 | 2,3 | 0,2 - 4,3 |

| | n | Edad (años) | Rango (min. - max.) (ng/mL) | Media (ng/mL) | Mediana (ng/mL) | Percentil 2,5 - 97,5 (ng/mL) |
|--------------------|----|-------------|-----------------------------|---------------|-----------------|------------------------------|
| Niños | 75 | 1 - 10 | 0,03 - 2,85 | 1,04 | 0,88 | 0,08 - 2,58 |
| Adolescente | 3 | 11 - 14 | 0,06 - 1,38 | 0,65 | 0,50 | 0,07 - 1,34 |
| | 10 | 15 - 18 | 0,41 - 2,35 | 1,24 | 1,26 | 0,42 - 2,26 |

En un estudio llevado a cabo con individuos aparentemente sanos, utilizando el DIASOURCE 17-OH Progesterone ELISA se observaron los siguientes valores:

| | | |
|----------------|----------------------|-------------------|
| Mujeres | Fase folicular | 0,1 - 0,8 ng/mL |
| | Fase lútea | 0,6 - 2,3 ng/mL |
| | Ovulación | 0,3 - 1,4 ng/mL |
| | Publicar ACTH | < 3,2 ng/mL |
| | Tercer semestre | 2,0 - 12 ng/mL |
| | | |
| | Mujer posmenopáusica | 0,13 - 0,51 ng/mL |
| Hombres | | 0,5 - 2,1 ng/mL |

8 CONTROL DE CALIDAD

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.

Después de comprobar los asuntos mencionados arriba sin encontrar ningún error, contactar con su distribuidor o con DIASOURCE directamente.

9 CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

9.1 Rango dinámico del ensayo

Consultar el manual de usuario en inglés.

9.2 Especificidad de los Anticuerpos (Reactividad Cruzada)

Consultar el manual de usuario en inglés.

9.3 Sensibilidad Analítica

Consultar el manual de usuario en inglés.

9.4 Precisión

Consultar el manual de usuario en inglés.

9.5 Recuperación

Consultar el manual de usuario en inglés.

9.6 Linealidad

Consultar el manual de usuario en inglés.

10 LIMITACIONES DE USO

Cualquier manipulación inadecuada de las muestras o modificaciones del ensayo pueden 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

Consultar el manual de usuario en inglés.

10.3 Efecto Gancho-Dosis-Elevada

No se ha observado efecto gancho en este ensayo.

11 ASPECTOS LEGALES

Por favor consulte la versión detallada en inglés de las Instrucciones de Uso.

1. Chrousos GP et al. Late onset 21-hydroxylase deficiency mimicking idiopathic hirsutism or polycystic ovarian disease. *Annals Intern Med.* 1982; 96,143-148.
2. Choi J-H, and Yoo H-W. Management issues of congenital adrenal hyperplasia during transition from pediatric to adult care. *Korean J. Pediatr.* 2017; 60(2), 31-37.
3. Eisenhoefer G et al. Reference intervals for plasma concentrations of adrenal steroids measured by LC-MS/MS: Impact of gender, age, oral contraceptives, body mass index and blood pressure status. *Clin. Chim Acta.* 2017; 470, 115-124.
4. Honour JW. 17-Hydroxyprogesterone in children, adolescents and adults. *Annals of Clinical Biochemistry,* 2014; 51(4), 424-440.
5. Hughes IA, Riad-Fahmy D, and Griffith K. Plasma 17OH-progesterone concentrations in newborn infants. *Archives of Disease in Childhood.* 1979; 54, 347-349.
6. Ishii T et al. Guidelines for diagnosis and treatment of 21-hydroxylase deficiency (2014 revision). *Clin. Pediatr. Endocrinol.* 2015; 24(3), 77-105.
7. Kang MJ et al. Relationships of basal level of serum 17-hydroxyprogesterone with that of serum androstenedione and their stimulated responses to a low dose of ACTH in young adult patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J. Korean Med. Sci.* 2011; 26(11), 1454-60.
8. Maas KH et al. Relationship between 17-Hydroxyprogesterone responses to human chorionic gonadotropin and markers of ovarian follicle morphology in women with polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2015; 100(1), 293-300.

Revision date: 2021-02-08