



DCM006-11

Ed. 03/2024

# PROGESTERONE ELISA

per analisi di routine

Determinazione immunoenzimatica diretta di progesterone nel siero o plasma umano

IVD

LOT

Vedere etichetta esterna

2°C  8°C $\Sigma$   $\Sigma = 96$  test

REF DKO006

## 1. SCOPO PREVISTO

Per uso diagnostico *in vitro*

Per uso professionale in laboratorio

Progesterone ELISA è un dispositivo diagnostico manuale *in vitro* destinato alla determinazione quantitativa di progesterone nel siero o nel plasma umano da una popolazione adulta. I risultati devono essere impiegati in associazione ad altri dati clinici e di laboratorio come supporto nella diagnosi e nel monitoraggio dei disturbi ovarici e della placenta.

## 2. RILEVANZA CLINICA

Il progesterone è un ormone sintetizzato nelle ovaie, nelle ghiandole surrenali e nella placenta. Si diffonde nel circolo ematico dove si lega alle proteine plasmatiche leganti gli steroidi come l'albumina e la proteina legante i corticosteroidi. Il progesterone viene quindi trasportato verso gli organi bersaglio tra cui l'ipotalamo, le ovaie, l'utero ma anche il fegato, dove viene catabolizzato<sup>1</sup>.

Il progesterone è fondamentale nella fase iniziale della gravidanza perché è necessario per la ricettività uterina per l'impianto dell'embrione<sup>1</sup>. Durante la prima fase follicolare del ciclo mestruale femminile, la maggior parte del progesterone circolante è di produzione surrenale. Tuttavia, nella tarda fase follicolare, c'è un aumento dei livelli sierici di progesterone rilasciato dal corpo luteo, un follicolo ovarico luteinizzato<sup>1</sup>. Questo aumento fisiologico del progesterone è fondamentale per garantire la funzione secretoria dell'endometrio e un normale impianto dell'embrione<sup>2</sup>. Tramite questa azione, il progesterone controlla il sistema immunitario materno per promuovere l'immunotolleranza materna ed evitare il rigetto dell'embrione, riduce la contrattilità uterina e migliora la circolazione utero-placentare per una corretta crescita dell'embrione<sup>3</sup>.

La misurazione del progesterone è utile quale ausilio per la valutazione dell'ovulazione e la diagnosi di disfunzioni ovariche che potrebbero causare infertilità. Inoltre, la valutazione del progesterone è utilizzata anche come aiuto nella diagnosi di gravidanza ectopica (EP), dato che i livelli di progesterone sono più bassi nella EP rispetto alla gravidanza intrauterina<sup>4,5</sup>.

I livelli di progesterone sono relativamente bassi nei bambini e nelle donne in post-menopausa. I maschi adulti hanno livelli simili a quelli delle donne durante la fase follicolare del ciclo mestruale.

## 3. PRINCIPIO DEL METODO

Il test Progesterone ELISA è un dosaggio immunometrico enzimatico competitivo (ELISA) in cui il progesterone (antigene) nel campione compete con il progesterone antigenico coniugato con perossidasi di rafano (HRP) per il legame al numero limitato di anticorpi anti-progesterone rivestiti sulla micropiastra (fase solida).

Dopo l'incubazione, la separazione del legato dal libero viene eseguita con un semplice lavaggio della fase solida. Quindi, l'enzima HRP nella parte libera reagisce con il substrato (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e il substrato TMB e sviluppa un colore blu che cambia in giallo quando viene aggiunta la soluzione di arresto (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). L'intensità del colore è inversamente proporzionale alla concentrazione di progesterone nel campione.

La concentrazione di progesterone nel campione viene calcolata attraverso una curva di calibrazione.

## 4. REAGENTI, MATERIALI E STRUMENTAZIONE

### 4.1. Reagenti e materiali forniti nel kit

1. Calibrators (5 fiale, 1 mL ciascuna)

ProClin &gt;0,0015%

CAL0

REF DCE002/0606-0

CAL1

REF DCE002/0607-0

CAL2

REF DCE002/0608-0

CAL3

REF DCE002/0609-0

CAL4

REF DCE002/0610-0

CAL5

REF DCE002/0611-0

2. Control (1 fiala, 1 mL)

ProClin &gt;0,0015%

La concentrazione del controllo è indicata sul certificato di analisi

REF DCE045/0603-0

3. Conjugate (1 fiala, 22 mL)

Progesterone coniugato con perossidasi di rafano (HRP), ProClin &gt;0,0015% e BSA 0,1%

REF DCE002/0602-0

4. Coated Microplate (1 micropiastra frangibile)

Anticorpo anti-progesterone rivestito sulla micropiastra

REF DCE002/0603-0

5. TMB Substrate (1 fiala, 15 mL)H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-TMB 0,26 g/L (evitare qualsiasi contatto con la pelle)

ProClin &lt;0,0015%

REF DCE004-0

## 6. Stop Solution (1 fiala, 15 mL)

Acido solforico 0,15 mol/L (evitare qualsiasi contatto con la pelle)

REF DCE005-0

## 7. 10X Conc. Wash Solution (1 fiala, 50 mL)

Tampone fosfato 0,2 M pH 7,4, ProClin >0,0015%

REF DCE054-0

### 4.2. Materiali richiesti ma non forniti

Acqua distillata

### 4.3. Materiali e strumentazione ausiliari


Erogatore automatico

Pipette di precisione

Incubatore (25 °C)

Letto di micropiastre (450 nm, 620-630 nm)

## 5. AVVERTENZE

- Questo kit è destinato all'uso *in vitro* esclusivamente da parte di professionisti. Non per uso interno o esterno in esseri umani o animali.
- Utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale mentre si lavora con i reagenti forniti.
- Seguire le buone prassi di laboratorio (GLP, Good Laboratory Practice) per la manipolazione di emoderivati.
-  Il materiale di origine animale utilizzato nella preparazione del kit è stato ottenuto da animali certificati come sani e la proteina bovina è stata ottenuta da Paesi non infettati dalla BSE, ma tali materiali devono essere trattati come potenzialmente infettivi.
- Alcuni reagenti (calibratori, controllo, coniugato e soluzione di lavaggio) contengono piccole quantità di ProClin™ 300 (>0,0015%, <0,06%) come conservante. Evitare il contatto con pelle o mucose.
- Classificazione secondo il regolamento (CE) n. 1272/2008 [CLP]

Sensibilizzazione cutanea, categoria 1



Attenzione

Contiene: ProClin 300

#### Indicazioni di pericolo:

H317 - Può provocare una reazione allergica cutanea.

#### Consigli di prudenza:

P261 - Evitare di respirare la polvere / i fumi / i gas / la nebbia / i vapori / gli aerosol.

P280 - Indossare guanti/indumenti protettivi / proteggere gli occhi / proteggere il viso / proteggere l'udito.

P321 - Trattamento specifico (vedere istruzioni supplementari di pronto soccorso su questa etichetta).

P333+P313 - In caso di irritazione o eruzione della pelle: Consultare un medico.

P362+P364 - Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

- La Stop Solution è costituita da una soluzione di acido solforico diluito. L'acido solforico è velenoso e corrosivo e può essere tossico se ingerito. Per prevenire possibili ustioni chimiche, evitare il contatto con la cute e con gli occhi.
- Evitare l'esposizione del reagente TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a luce solare diretta, metalli o ossidanti. Non congelare la soluzione.

## 6. PRECAUZIONI

- Attenersi rigorosamente alla sequenza dei passaggi di pipettaggio forniti in questo protocollo. I dati sulle prestazioni qui rappresentati sono stati ottenuti utilizzando i reagenti specifici elencati in queste istruzioni per l'uso.
- Tutti i reagenti devono essere conservati refrigerati a 2-8 °C nel contenitore originale. Tutte le eccezioni sono chiaramente indicate.
- Lasciare che tutti i componenti del kit e i campioni raggiungano la temperatura ambiente (22-28 °C) e mescolare bene prima dell'uso.
- Non scambiare i componenti di kit di lotti diversi. La data di scadenza stampata sulle etichette della confezione e delle fiale deve essere rispettata. Non utilizzare alcun componente del kit dopo la data di scadenza.
- Se si utilizzano apparecchiature automatizzate, l'utente ha la responsabilità di assicurarsi che il kit sia stato adeguatamente convalidato per il suo utilizzo/scopo previsto.
- La rimozione incompleta o imprecisa del liquido dai pozzetti potrebbe influenzare la precisione del dosaggio e/o aumentare il background. Per migliorare le prestazioni del kit sui sistemi automatici, si raccomanda di aumentare il numero di lavaggi.
- È importante che il tempo di reazione in ogni pozzetto sia mantenuto costante per ottenere risultati riproducibili. Il pipettaggio dei campioni non deve andare oltre i dieci minuti per evitare deviazioni del dosaggio. Se sono necessari più di 10 minuti, seguire lo stesso ordine di erogazione. Se si utilizza più di una piastra, si raccomanda di ripetere la curva dose-risposta in ogni piastra.
- L'aggiunta della soluzione di substrato TMB avvia una reazione cinetica, che viene terminata dall'aggiunta della soluzione di arresto. Pertanto, il substrato TMB e la soluzione di arresto devono essere aggiunti nella stessa sequenza per eliminare qualsiasi deviazione temporale durante la reazione.
- Osservare le linee guida per l'esecuzione del controllo di qualità nei laboratori medici analizzando i controlli e/o i sieri in pool.
- La massima precisione è richiesta per la ricostituzione e l'erogazione dei reagenti.
- I campioni microbiologicamente contaminati, altamente lipemici, itterici o emolizzati non devono essere utilizzati nel dosaggio.
- I lettori di piastre misurano verticalmente. Non toccare il fondo dei pozzetti.
- Quando si pipettano i reagenti del dosaggio, compresi campioni, calibratori e controlli, è necessario utilizzare puntali monouso nuovi per ridurre il rischio di contaminazione da carryover. In caso contrario, i risultati potrebbero non essere validi.

## 7. CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

Conservare il kit a 2-8 °C, al buio.

- Il kit è stabile a 2-8 °C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta esterna del kit.
- Una volta aperto, il kit è stabile a 2-8 °C per 6 mesi.
- La soluzione di lavaggio diluita è stabile per 30 giorni a 2-8 °C.

Nota importante: aprire il sacchetto contenente la micropiastro rivestita solo quando è a temperatura ambiente e chiuderlo immediatamente dopo l'uso.

## 8. RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Il dosaggio deve essere effettuato su campioni di siero (provette di campionamento standard o provette contenenti gel per la separazione del siero) o plasma (litio eparina, sodio eparina o EDTA di potassio).

Conservazione dei campioni	Durata
2-8 °C	96 ore
Cicli di congelamento/scongelamento	3 cicli

## 9. PROCEDURA

### 9.1. Preparazione di calibratori e controlli

Prima dell'uso, miscelare delicatamente per 5 minuti con un miscelatore a rotazione. I calibratori sono pronti per l'uso e hanno le seguenti concentrazioni:

	C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>
ng/mL	0	0,2	1,0	5,0	15,0	40,0

I controlli sono pronti per l'uso; la concentrazione del controllo è stampata sull'etichetta.

### 9.2. Preparazione del coniugato

Pronto all'uso. Miscelare delicatamente per 5 minuti in un mixer a rotazione.

### 9.3. Preparazione della soluzione di lavaggio

Diluire il contenuto della fiala "Soluzione di lavaggio conc. 10X" con acqua distillata fino a un volume finale di 500 mL prima dell'uso. Per i volumi più piccoli, rispettare il rapporto di diluizione 1:10.

È possibile osservare la presenza di cristalli all'interno della soluzione di lavaggio concentrata; in tal caso, mescolare a temperatura ambiente fino alla completa dissoluzione dei cristalli. Per una maggiore precisione, diluire l'intero flacone di soluzione di lavaggio concentrata a 500 mL, avendo cura anche di trasferire completamente i cristalli sciaccando il flacone, quindi mescolare fino a quando i cristalli non si dissolvono completamente.

### 9.4. Preparazione dei campioni

La determinazione del progesterone può essere eseguita sia nel plasma umano che nel siero.

Raccogliere il sangue mediante puntura venosa in contenitori vacutainer e separare il siero (dopo la formazione del coagulo) o il plasma dalle cellule mediante centrifugazione.

Conservare il campione a -20 °C se la determinazione non viene eseguita lo stesso giorno della raccolta del campione. Prima dell'uso, miscelare delicatamente per 5 minuti con un miscelatore a rotazione.

### 9.5. Procedura

- **Lasciare che tutti i reagenti raggiungano la temperatura ambiente (22-28 °C) per almeno 30 minuti.** Alla fine del dosaggio, conservare immediatamente i reagenti a 2-8 °C: evitare una lunga esposizione a temperatura ambiente.
- Le strisce di micropozzetti rivestiti non utilizzate devono essere rilasciate in modo sicuro nella busta di alluminio contenente l'essiccante e conservate a 2-8 °C.
- Per evitare potenziali contaminazioni microbiche e/o chimiche, i reagenti inutilizzati non devono mai essere trasferiti nelle fiale originali.

- Poiché è necessario eseguire la determinazione in duplicato per migliorare la precisione dei risultati del test, preparare due pozzetti per ogni punto della curva di calibrazione (C<sub>0</sub>-C<sub>5</sub>), due per ogni controllo, due per ogni campione, uno per il bianco.

Reagente	Calibratore	Campione/ Controllo	Bianco
Calibratore C <sub>0</sub> -C <sub>5</sub>	20 µL		
Campione/ Controllo		20 µL	

Incubare a 25 °C per 5 minuti.

Coniugato	200 µL	200 µL	
-----------	--------	--------	--

Incubare a 25 °C per 1 ora.

Rimuovere il contenuto da ogni pozzetto; lavare i pozzetti 3 volte con 300 µL di soluzione di lavaggio diluita.

**Nota importante:** durante ogni fase di lavaggio, agitare delicatamente la piastra per 5 secondi e rimuovere la soluzione in eccesso picchiando la piastra capovolta su un tovagliolo di carta assorbente.

**Lavatore automatico:** se si utilizzano apparecchiature automatiche, lavare i pozzetti almeno 5 volte.

Substrato TMB	100 µL	100 µL	100 µL
------------------	--------	--------	--------

Incubare a temperatura 22-28 °C per 15 minuti al buio.

Soluzione di arresto	100 µL	100 µL	100 µL
-------------------------	--------	--------	--------

Agitare delicatamente la micropiastra.

Leggere l'assorbanza (E) a 450 nm contro una lunghezza d'onda di riferimento di 620-630 nm o contro il bianco entro 5 minuti.

## 10. CONTROLLO QUALITÀ

Le buone prassi di laboratorio (GLP) richiedono l'inclusione di campioni per il controllo della qualità in ogni serie di dosaggi al fine di verificare le prestazioni del dosaggio. I controlli devono essere trattati come campioni sconosciuti e i risultati devono essere analizzati con metodi statistici appropriati.

Il controllo fornito nel kit deve essere testato come se fosse sconosciuto e ha lo scopo di agevolare la valutazione della validità dei risultati ottenuti in ogni piastra di dosaggio.

La concentrazione media del livello di controllo è documentata nel rapporto del controllo di qualità incluso in ciascun kit. Tali livelli di concentrazione media sono determinati in base a diversi dosaggi eseguiti in duplicato in più posizioni su ciascuna piastra.

DiaMetra raccomanda agli utenti di conservare le annotazioni grafiche dei valori di controllo generati con ciascun dosaggio, tra cui medie mobili, DS e CV%. Queste informazioni faciliteranno l'analisi delle tendenze dei controlli per quanto riguarda le prestazioni dei lotti di controllo attuali e pregressi rispetto ai dati forniti nel controllo di qualità. Le tendenze aiuteranno a identificare i dosaggi che generano valori di controllo significativamente diversi dal rispettivo intervallo medio.

Quando si interpretano i dati dei controlli, occorre tenere conto del fatto che il prodotto è stato progettato e sviluppato come prodotto per l'utilizzo manuale. L'intervallo riportato sul

certificato del controllo di qualità deve essere appropriato per i dosaggi eseguiti manualmente e rispettando rigorosamente la procedura di dosaggio descritta sopra. Gli esperti del controllo di qualità riconoscono che, a causa delle differenze di condizioni e di prassi, si avrà sempre una variabilità nei valori medi e nella precisione delle misurazioni dei controlli eseguite da laboratori diversi<sup>6</sup>.

## 11. CALCOLO DEI RISULTATI

Sono disponibili vari pacchetti software di elaborazione dei dati, che possono essere utilizzati per generare la curva di calibrazione media e per calcolare le concentrazioni medie di campioni e controlli sconosciuti. **È consigliato** un adattamento della curva logistica a 4 parametri (4PL) **che includa il calibratore 0**.

In alternativa, è possibile preparare una curva di calibrazione su carta millimetrata semilogaritmica tracciando un grafico con l'assorbanza media sull'asse delle ordinate e la concentrazione dell'analita sull'asse delle ascisse. Nella curva di calibrazione deve essere incluso il calibratore 0. Leggere il valore medio dell'assorbanza di ciascun campione sconosciuto dalla curva.

Affinché i risultati del dosaggio siano considerati validi, i calibratori e i controlli del kit devono rientrare nelle specifiche riportate nel certificato di analisi specifico del lotto.

In caso contrario, i risultati dei test associati non saranno validi e i campioni dovranno essere analizzati nuovamente.

## 12. INTERVALLO DI MISURAZIONE

L'intervallo di misurazione del test (AMR) è 0,26-40 ng/mL. Qualsiasi valore inferiore a 0,26 ng/mL deve essere indicato come "< 0,26 ng/mL". Qualsiasi valore superiore 40 ng/mL deve essere indicato come "> 40 ng/mL".

## 13. METROLOGIA E TRACCIABILITÀ

I calibratori di questo kit sono tracciabili allo standard Progesterone dell'Istituto Nazionale di Metrologia del Giappone (6003-a).

## 14. VALORI ATTESI

I seguenti intervalli sono stati determinati utilizzando il test Progesterone ELISA e sono forniti unicamente a scopo informativo. Il 90% degli intervalli di riferimento per adulti apparentemente sani è stato calcolato attraverso un metodo non parametrico secondo le linee guida tratte dal documento CLSI C28-A3 "Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory".

Adulti	n	Mediana (ng/mL)	Valori attesi (ng/mL)
<b>Uomini</b>	116	0,8	<0,26 – 1,77
<b>Donne</b>			
<b>Fase follicolare</b>	118	0,434	< 0,26 – 1,94
<b>Fase luteinica</b>	42	4,72	2,16 – 18,55
<b>Post-menopausa</b>	120	<0,26	<0,26 – 0,82

Gravidanza	n	Mediana (ng/mL)	Valori attesi (ng/mL)
<b>1° trimestre</b>	39	37,09	14,80 - >40,00
<b>2° trimestre</b>	39	>40,00	38,47 - >40,00
<b>3° trimestre</b>	40	>40,00	>40,00

Gli intervalli sopraindicati devono essere considerati solo come linee guida; si raccomanda a ogni laboratorio di stabilire i propri intervalli di valori attesi sulla base della propria popolazione di pazienti.

## 15. CARATTERISTICHE DI AZIONE

Sono mostrati i dati più rappresentativi delle prestazioni. I risultati ottenuti nei singoli laboratori possono variare.

### 15.1. Capacità di rilevamento

Il limite di bianco (LoB), il limite di rilevazione (LoD) e il limite di quantificazione (LoQ) sono stati stabiliti secondo le linee guida tratte da CLSI EP17-A, "Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation" usando 6 campioni bianchi e 6 a basso livello.

Sensibilità	Concentrazione
Limite del bianco (LoB)	0,02 ng/mL
Limite di rilevamento (LoD)	0,11 ng/mL
Limite della determinazione quantitativa (LoQ)	0,26 ng/mL

### 15.2. Esattezza

L'esattezza è stata dimostrata attraverso un test di recupero per il test Progesterone ELISA con il Progesterone standard dell'Istituto Nazionale di Metrologia del Giappone (codice 6003-a).

### 15.3. Precisione

La precisione del test Progesterone ELISA è stata determinata eseguendo un complesso studio di precisione.

**Ripetibilità:** un totale di 6 campioni di siero è stato analizzato in 5 repliche, una volta al giorno per 5 giorni da 3 operatori.

I dati di un lotto rappresentativo sono mostrati di seguito:

Campione	n	Conc. media (ng/mL)	Intra-test (ripetibilità)	
			DS	% CV
1	75	0,93	0,08	9,0%
2	75	1,18	0,10	8,4%
3	75	2,60	0,22	8,5%
4	75	7,75	0,77	9,9%
5	75	22,05	1,60	7,2%
6	75	36,72	2,25	6,1%

**Riproducibilità:** un totale di 6 campioni di siero è stato analizzato in 5 repliche, una volta al giorno per 5 giorni da 3 operatori.

I risultati per i dati combinati di due lotti sono mostrati di seguito:

Campione	n	Conc. media (ng/mL)	All'interno del laboratorio (riproducibilità)	
			DS	% CV
1	150	0,89	0,11	12,5%
2	150	1,14	0,15	13,0%
3	150	2,44	0,37	15,1%
4	150	7,41	1,06	14,3%
5	150	21,54	2,08	9,7%
6	150	36,43	2,33	6,4%

#### 15.4. Linearità

La linearità è stata valutata secondo le linee guida basate su CLSI EP-06, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". Per la concentrazione di progesterone mediante il test Progesterone ELISA, la procedura di misurazione mostra linearità per l'intervallo da 0,17 a 41,02 ng/mL entro la deviazione ammissibile di linearità (ADL) di  $\pm 15\%$ .

#### 15.5. Confronto del metodo

Il test Progesterone ELISA è stato confrontato con un test ELISA A quantitativo disponibile in commercio, seguendo le linee guida CLSI EP-9A, "Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples". Un totale di 109 campioni, selezionati per rappresentare un vasto intervallo di concentrazioni di progesterone [0,17-35,84 ng/mL] è stato dosato con entrambi i metodi. L'analisi di regressione di Passing-Bablok è stata effettuata su dati comparativi:

n	Pendenza [IC 95%]	Intercetta (ng/mL) [IC 95%]	Coefficiente di correlazione (r)
109	1,09 [da 0,99 a 1,21]	0,03 [da -0,08 a 0,13]	0,98

#### 15.6. Specificità analitica

La specificità è stata valutata con i seguenti reagenti crociati.

Reagente crociato	Concentrazione e testata (unità)	Reattività crociata media %
Testosterone	1.000 ng/mL	0,31%
17 $\alpha$ -OH progesterone	1.000 ng/mL	0,60%
17 $\beta$ -estradiolo	100 ng/mL	0,79%
Estrone	3.000 ng/mL	0,00%
Estriolo	1.000 ng/mL	0,00%
Cortisolo	100 $\mu$ g/mL	0,00%
Pregnenolone	100 ng/mL	1,71%
5 $\alpha$ -diidrotosterone	1.000 ng/mL	0,32%
11-deossicortisolo	1.000 ng/mL	0,05%
Corticosterone	1.000 ng/mL	0,12%

Le seguenti sostanze non interferiscono con un bias  $> \pm 15\%$  nel test Progesterone ELISA quando le concentrazioni sono inferiori alla soglia dichiarata presentata nella tabella seguente.

Reagente potenzialmente interferente	Concentrazione di soglia
Bilirubina, coniugata	15 mg/dL
Bilirubina, non coniugata	15 mg/dL
Emoglobina	200 mg/dL
Proteine totali	10 g/dL
Trigliceridi	500 mg/dL

#### 15.7. Studio su siero-plasma

È stato condotto uno studio di confronto tra matrici del test Progesterone ELISA per valutare la differenza tra i tipi di provette (provette per la separazione del siero (SST), per plasma in litio eparina, per plasma in sodio eparina e plasma in K2 EDTA) rispetto ai campioni di controllo (siero tappo rosso, senza additivo) secondo le linee guida CLSI EP9-A3. È stato valutato un totale di 23 campioni (tutti nativi) nell'intervallo da 0,26 a 40 ng/mL. L'analisi di regressione lineare è stata effettuata su dati comparativi:

Tipo di campione	Pendenza [IC 95%]	Intercetta (ng/mL) [IC 95%]	Coefficiente di correlazione (r)
SST	0,93 [da 0,91 a 0,95]	0,01 [da -0,20 a 0,21]	1,00
Litio eparina	0,95 [da 0,90 a 1,01]	0,16 [da -0,41 a 0,74]	0,99
Sodio eparina	0,95 [da 0,92 a 0,98]	0,12 [da -0,20 a 0,45]	1,00
EDTA	0,98 [da 0,96 a 1,01]	-0,02 [da -0,30 a 0,26]	1,00

#### 16. LIMITAZIONI D'USO

- Come nel caso di qualsiasi procedura diagnostica, i risultati devono essere interpretati unitamente ai dati clinici del paziente e alle altre informazioni a disposizione del medico.
- Non sono state stabilite le caratteristiche di azione di questo dosaggio nella popolazione pediatrica.
- Gli anticorpi eterofili nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline dei reagenti, interferendo con gli immunodosaggi *in vitro*<sup>7</sup>. I pazienti regolarmente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero animale possono essere soggetti a questa interferenza, quindi si potrebbero osservare valori anomali.

#### 17. GESTIONE DEI RIFIUTI

I reagenti devono essere smaltiti in conformità alle normative locali.

Tutti i materiali che sono entrati in contatto con i campioni e i reagenti devono essere smaltiti in conformità con le normative nazionali, regionali e locali.

#### 18. BIBLIOGRAFIA

1. Wu SP, Li R, DeMayo FJ. Progesterone Receptor Regulation of Uterine Adaptation for Pregnancy. *Trends Endocrinol Metab.* 2018 Jul;29(7):481-491.
2. Kasum M, Simunić V, Vrčić H, Stanić P, Orešković S, Beketić-Orešković L. Follicular progesterone elevations with ovulation induction for IVF. *Gynecol Endocrinol.* 2014 Aug;30(8):537-41.
3. Di Renzo GC, Giardina I, Clerici G, Brillo E, Gerli S. Progesterone in normal and pathological pregnancy. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2016 Jul 1;27(1):35-48.
4. Feng C, Chen ZY, Zhang J, Xu H, Zhang XM, Huang XF. Clinical utility of serum reproductive hormones for the early diagnosis of ectopic pregnancy in the first trimester. *J Obstet Gynaecol Res.* 2013 Feb;39(2):528-35.
5. Rausch ME, Sammel MD, Takacs P, Chung K, Shaunik A, Barnhart KT. Development of a multiple marker test for ectopic pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2011 Mar;117(3):573-82.
6. Basic QC Practices On-line Course; <http://www.Westgard.com>.
7. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27–33

#### 19. IDENTIFICATORE DELLE REVISIONI

Le aggiunte o le modifiche alle istruzioni per l'uso sono indicate dall'evidenziazione in grigio.

#### 20. RECLAMI SUI PRODOTTI E SUPPORTO TECNICO

Per un paziente/utente/terza parte nell'Unione Europea e nei Paesi con un regime normativo simile (Regolamento 2017/746/UE relativo ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro*); se, durante l'uso di questo dispositivo o come risultato del suo utilizzo, si è verificato un incidente grave, segnalarlo al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all'autorità normativa nazionale.

Il produttore può essere contattato tramite il relativo servizio clienti o il team di supporto tecnico. I dettagli di contatto sono disponibili di seguito e sul sito Web dell'azienda: [www.diametra.com](http://www.diametra.com).

Ed. 03/2024

DCM006-11



DCM006-11

Ed. 03/2024

# PROGESTERONE ELISA

for routine analysis

Direct immunoenzymatic determination of Progesterone in human serum or plasma

IVD

LOT

See external label

2°C 8°C

 $\Sigma = 96$  tests

REF DKO006

## 1. INTENDED PURPOSE

For *In Vitro* Diagnostic Use  
For Laboratory Professional Use

Progesterone ELISA is a manual *in vitro* diagnostic device intended for the quantitative determination of progesterone in human serum or plasma. Results are to be used in conjunction with other clinical and laboratory data as an aid in the diagnosis and monitoring of disorders of the ovaries and placenta.

## 2. CLINICAL SIGNIFICANCE

Progesterone is a hormone synthesised in the ovaries, adrenal glands and placenta. It diffuses into circulation where it binds to plasma steroid-binding proteins such as albumin and corticosteroid binding protein. Progesterone is then transported toward the target organs including the hypothalamus, ovaries, uterus but also the liver, where it is catabolised<sup>1</sup>.

Progesterone is fundamental in the early phase of pregnancy since it is required for uterine receptivity for embryo implantation<sup>1</sup>. During the early follicular phase of the female menstrual cycle, the majority of circulating progesterone is of adrenal production. However, in the late follicular phase, there is a rise in progesterone serum levels released by the corpus luteum, a luteinised ovarian follicle<sup>1</sup>. This physiological increase of progesterone is crucial to ensure the secretory function of endometrium and a normal embryo implantation<sup>2</sup>. It does so by controlling the maternal immune system to promote maternal immunotolerance to avoid embryo rejection and reduces uterine contractility and improves utero-placental circulation for proper growth of the embryo<sup>3</sup>.

Measurement of progesterone is useful to aid the assessment of ovulation and to aid in the diagnosis of ovarian dysfunctions that could lead to infertility. In addition, assessment of progesterone is also used as an aid in the diagnosis of ectopic pregnancy (EP), where levels are lower in EP than intrauterine pregnancy<sup>4,5</sup>.

Progesterone levels are relatively low in children and postmenopausal women. Adult males have levels similar to

those in women during the follicular phase of the menstrual cycle.

## 3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Progesterone ELISA is a competitive enzyme immunometric assay (ELISA) where progesterone (antigen) in the sample competes with the antigenic progesterone conjugated with horseradish peroxidase (HRP) for binding to the limited number of antibodies anti progesterone coated on the microplate (solid phase).

After the incubation, the bound/free separation is performed by a simple solid phase washing. Then, the enzyme HRP in the bound fraction reacts with the Substrate ( $H_2O_2$ ) and the TMB Substrate and develops a blue colour that changes into yellow when the Stop Solution ( $H_2SO_4$ ) is added. The colour intensity is inversely proportional to the progesterone concentration in the sample.

Progesterone concentration in the sample is calculated through a calibration curve.

## 4. REAGENTS, MATERIALS AND INSTRUMENTATION

### 4.1. Reagents and materials supplied in the kit

#### 1. Calibrators (5 vials, 1 mL each)

ProClin &gt;0.0015%

CAL0

REF DCE002/0606-0

CAL1

REF DCE002/0607-0

CAL2

REF DCE002/0608-0

CAL3

REF DCE002/0609-0

CAL4

REF DCE002/0610-0

CAL5

REF DCE002/0611-0

#### 2. Control (1 vial, 1 mL)

ProClin &gt;0.0015%

Concentration of Control is indicated on the Certificate of Analysis

REF DCE045/0603-0

#### 3. Conjugate (1 vial, 22 mL)

Progesterone conjugated with horseradish peroxidase (HRP), ProClin >0.0015% and BSA 0.1%

REF DCE002/0602-0

#### 4. Coated Microplate (1 microplate breakable)

Antibody anti Progesterone coated on the microplate

REF DCE002/0603-0



5. **TMB Substrate** (1 vial, 15 mL)  
 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-TMB 0.26 g/L (avoid any skin contact)  
 ProClin <0.0015% **REF DCE004-0**
6. **Stop Solution** (1 vial, 15 mL)  
 Sulphuric acid 0.15 mol/L (avoid any skin contact)  
**REF DCE005-0**
7. **10X Conc. Wash Solution** (1 vial, 50 mL)  
 Phosphate buffer 0.2M pH 7.4, ProClin >0.0015%  
**REF DCE054-0**


#### 4.2. Materials required but not provided

Distilled water

#### 4.3. Auxiliary materials and instrumentation

Automatic dispenser  
 Precision Pipetting Devices  
 Microplate reader (450 nm, 620-630 nm)

#### 5. WARNINGS

- This kit is intended for *in vitro* use by professional persons only. Not for internal or external use in Humans or Animals.
- Use appropriate personal protective equipment while working with the reagents provided.
- Follow Good Laboratory Practice (GLP) for handling blood products.
-  Material of animal origin used in the preparation of the kit has been obtained from animals certified as healthy and the bovine protein has been obtained from countries not infected by BSE, but these materials should be handled as potentially infectious.
- Some reagents (calibrators, controls, conjugate and wash solution) contain small amounts of ProClin™ 300 (>0.0015%, <0.06%) as preservative. Avoid contact with skin or mucosa.
- Classification according to Regulation (EC) No. 1272/2008 [CLP]

Skin sensitivity, Category 1



Warning

Contains: ProClin 300

- The Stop Solution consists of a diluted sulphuric acid solution. Sulphuric acid is poisonous, corrosive and can be toxic if ingested. To prevent chemical burns, avoid contact with skin and eyes.
- Avoid the exposure of reagent TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to direct sunlight, metals or oxidants. Do not freeze the solution.

#### 6. PRECAUTIONS

- Please adhere strictly to the sequence of pipetting steps provided in this protocol. The performance data represented here were obtained using specific reagents listed in this Instruction For Use.
- All reagents should be stored refrigerated at 2 – 8°C in their original container. Any exceptions are clearly indicated.
- Allow all kit components and specimens to reach room temperature (22 – 28°C) and mix well prior to use.

- Do not interchange kit components from different lots. The expiry date printed on box and vials labels must be observed. Do not use any kit component beyond their expiry date.
- If you use automated equipment, the user has the responsibility to make sure that the kit has been appropriately validated for its intended use/purpose.
- The incomplete or inaccurate liquid removal from the wells could influence the assay precision and/or increase the background. To improve the performance of the kit on automatic systems is recommended to increase the number of washes.
- It is important that the time of reaction in each well is held constant for reproducible results. Pipetting of samples should not extend beyond ten minutes to avoid assay drift. If more than 10 minutes are needed, follow the same order of dispensation. If more than one plate is used, it is recommended to repeat the dose response curve in each plate
- Addition of the TMB Substrate solution initiates a kinetic reaction, which is terminated by the addition of the Stop Solution. Therefore, the TMB Substrate and the Stop Solution should be added in the same sequence to eliminate any time deviation during the reaction.
- Observe the guidelines for performing quality control in medical laboratories by assaying controls and/or pooled sera.
- Maximum precision is required for reconstitution and dispensation of the reagents.
- Samples microbiologically contaminated, highly lipemic, icteric or haemolysed should not be used in the assay.
- Plate readers measure vertically. Do not touch the bottom of the wells.
- Fresh disposable tips must be used when pipetting assay reagents including samples, calibrators and controls to mitigate the risk of carryover contamination. Failure to do so may lead to invalid results.

#### 7. REAGENT STORAGE AND STABILITY

Store the kit at 2 – 8°C in the dark.

- The kit is stable at 2 – 8°C until the expiry date stated on the external kit label.
- Once opened, the kit is stable at 2 – 8°C for 6 months.
- The diluted wash solution is stable for 30 days at 2-8°C.

Important note: open the bag containing the Coated Microplate only when it is at room temperature and close it immediately after use.

#### 8. SAMPLE COLLECTION AND STORAGE

The assay should be performed using serum (standard sampling tubes or tubes containing serum separating gel) or plasma (lithium heparin, sodium heparin or potassium EDTA) samples.

Sample Storage	Duration
2 – 8 °C	96 hours
Freeze/thaw cycles	3 cycles



## 9. PROCEDURE

### 9.1. Preparation of Calibrators and Controls

Before use, mix for 5 minutes with a rotating mixer. The calibrators are ready for use and have the following concentration:

	C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>
<b>ng/mL</b>	0	0.2	1.0	5.0	15.0	40.0

The control is ready to use; the concentration is printed on the label.

### 9.2. Preparation of the Conjugate

The conjugate is ready to use.

### 9.3. Preparation of the Wash Solution

Dilute the content of the vial "10X Conc. Wash Solution" with distilled water to a final volume of 500 mL prior to use. For smaller volumes respect the 1:10 dilution ratio.

It is possible to observe the presence of crystals within the concentrated wash solution; in this case mix at room temperature until the complete dissolution of crystals. For greater accuracy, dilute the whole bottle of concentrated wash solution to 500 mL, taking care also to transfer crystals completely by rinsing of the bottle, then mix until crystals are completely dissolved.

### 9.4. Preparation of Samples

The determination of progesterone can be performed in human or plasma samples.

Collect blood by venepuncture into vacutainers and separate serum (after clot formation) or plasma from the cells by centrifugation.

Store the sample at -20°C if the determination is not performed on the same day of the sample collection. Before using, mix gently, for 5 minutes, with a roller mixer.

### 9.5. Procedure

- **Allow all reagents to reach room temperature (22 – 28 °C) for at least 30 minutes.** At the end of the assay, immediately store the reagents at 2 – 8°C: avoiding long exposure to room temperature.
- Unused coated microwell strips should be released securely in the foil pouch containing desiccant and stored at 2 – 8°C.
- To avoid potential microbial and/or chemical contamination, unused reagents should never be transferred into the original vials.
- As it is necessary to perform the determination in duplicate in order to improve accuracy of the test results, prepare two wells for each point of the calibration curve (C<sub>0</sub>-C<sub>5</sub>), two for the Control, two for each sample, one for Blank.

Reagent	Calibrator	Sample/Control	Blank
Calibrator C <sub>0</sub> -C <sub>5</sub>	<b>20 µL</b>		
Sample/ Control		<b>20 µL</b>	

Incubate at 25°C ±0.5°C for 5 minutes.

Conjugate	<b>200 µL</b>	<b>200 µL</b>	
-----------	---------------	---------------	--

Incubate 1 h at +25°C ±0.5°C.

Remove the contents from each well, wash the wells 3 times with 300 µL of diluted wash solution.

**Important note:** during each washing step, gently shake the plate for 5 seconds and remove excess solution by tapping the inverted plate on an absorbent paper towel.

**Automatic washer:** if you use automated equipment, wash the wells at least 5 times.

TMB Substrate	<b>100 µL</b>	<b>100 µL</b>	<b>100 µL</b>
---------------	---------------	---------------	---------------

Incubate at 22 – 28°C for 15 minutes in the dark.

Stop Solution	<b>100 µL</b>	<b>100 µL</b>	<b>100 µL</b>
---------------	---------------	---------------	---------------

Shake gently the microplate.

Read the absorbance (E) at 450 nm against a reference wavelength of 620-630 nm or against Blank within 5 minutes.

## 10. QUALITY CONTROL

Good Laboratory Practice (GLP) requires the use of quality control specimens in each series of assays in order to check the performance of the assay. Controls should be treated as unknown samples, and the results analysed with appropriate statistical methods.

The kit control provided in the kit should be tested as unknown and is intended to assist in assessing the validity of results obtained with each assay plate.

The mean concentration of the control level is documented in the QC report included with each kit. These mean concentration levels are determined over several assays which are run in duplicate in multiple locations across each plate.

DiaMetra recommends the users to maintain graphic records of the control values generated with each assay run, including the running means, SDs and %CVs. This information will facilitate the controls trending analysis relating to the performance of current and historical control lots relative to the supplied Quality Control data. The trending will assist in the identification of assays which give

control values significantly different from their average range.

When interpreting control data, users should note that this product was designed and developed as a manual product. The range stated on the QC certificate should be appropriate for assays that are performed manually and with strict adherence to the Assay Procedure described above. It is recognised by Quality Control professionals, that as a result of differences in conditions and practices, there will always be variability in the mean values and precision of control measurements between different laboratories<sup>6</sup>.

## 11. CALCULATION OF RESULTS

A variety of data reduction software packages are available, which may be employed to generate the mean calibration curve and to calculate the mean concentrations of unknown samples and controls. A 4-parameter logistic (4PL) curve fit, **including Calibrator 0 is required.**

Alternatively, a calibration curve may be prepared on semi-log graph paper by plotting mean absorbance on the Y-axis against concentration of analyte on the X-axis. Calibrator 0 should be included in the calibration curve. Read the mean absorbance value of each unknown sample off the curve.

In order for the assay results to be considered valid the kit calibrators and control must fall within the specifications detailed in the lot specific certificate of analysis.

If a control is out of its specified range, the associated test results are invalid and samples must be retested.

## 12. MEASURING RANGE

The assay measuring range (AMR) is 0.26 – 40 ng/mL. Any value that reads below 0.26 ng/mL should be reported as “< 0.26 ng/mL”. Any value that reads above 40 ng/mL should be reported as “> 40 ng/mL”.

## 13. METROLOGY AND TRACEABILITY

The calibrators of this kit are traceable to the Progesterone standard from the National Metrology Institute of Japan (6003-a).

## 14. EXPECTED VALUES

The following ranges were determined using the Progesterone ELISA and are provided for information only. The 90 % reference interval for apparently healthy adults were calculated by a non-parametric method following guidance from CLSI C28-A3 “Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory”.

Adults	n	Median (ng/mL)	Expected values (ng/mL)
<b>Males</b>	116	0.8	<0.26 - 1.77
<b>Females</b>			
<b>Follicular phase</b>	118	0.434	< 0.26 - 1.94
<b>Luteal phase</b>	42	4.72	2.16 - 18.55
<b>Postmenopausal</b>	120	<0.26	<0.26 - 0.82

<b>Pregnancy</b>			
<b>1<sup>st</sup> trimester</b>	39	37.09	14.80 - >40.00
<b>2<sup>nd</sup> trimester</b>	39	>40.00	38.47 - >40.00
<b>3<sup>rd</sup> trimester</b>	40	>40.00	>40.00

The above ranges should be considered as guidelines only; it is recommended that each laboratory establish its own expected range based upon its own patient population.

## 15. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Representative performance data are shown. Results obtained at individual laboratories may vary.

### 15.1. Detection Capability

The limit of blank (LoB), limit of detection (LoD) and limit of quantitation (LoQ) were determined with guidance from CLSI EP17-A, “Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation” using 6 blanks and 6 low level samples.

Sensitivity	Concentration
Limit of Blank (LoB)	0.02 ng/mL
Limit of Detection (LoD)	0.11 ng/mL
Limit of Quantitation (LoQ)	0.26 ng/mL

### 15.2. Trueness

Trueness has been demonstrated through a recovery test for the Progesterone ELISA with the Progesterone standard from the National Metrology Institute of Japan (code 6003-a).

### 15.3. Precision

Precision of the Progesterone ELISA was determined by performing a complex precision study.

**Repeatability:** A total of 6 serum samples were assayed in 5 replicates, once a day for 5 days by 3 operators.

Data from one representative lot is shown below:

Sample	n	Mean Conc. (ng/mL)	Within run (Repeatability)	
			SD	CV%
1	75	0.93	0.08	9.0%
2	75	1.18	0.10	8.4%
3	75	2.60	0.22	8.5%
4	75	7.75	0.77	9.9%
5	75	22.05	1.60	7.2%
6	75	36.72	2.25	6.1%

**Reproducibility:** A total of 6 serum samples were assayed in 5 replicates, once a day for 5 days by 3 operators. Results for the combined data from two lots is shown below:

Sample	n	Mean Conc. (ng/mL)	Within Laboratory (Reproducibility)	
			SD	CV%
1	150	0.89	0.11	12.5%
2	150	1.14	0.15	13.0%
3	150	2.44	0.37	15.1%
4	150	7.41	1.06	14.3%
5	150	21.54	2.08	9.7%
6	150	36.43	2.33	6.4%

#### 15.4. Linearity

Linearity was evaluated based on CLSI EP-06, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". For progesterone concentration by Progesterone ELISA, the measurement procedure shows linearity for the interval from 0.17 to 41.02 ng/mL within the allowable deviation of linearity (ADL) of  $\pm 15\%$ .

#### 15.5. Method comparison

The Progesterone ELISA was compared against a commercially available quantitative ELISA, following CLSI EP-9A, "Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples". A total of 109 samples, selected to represent a wide range of progesterone concentrations [0.17 – 35.84 ng/mL], was assayed by each method. Passing-Bablok regression analysis was performed on the comparative data:

n	Slope [95% CI]	Intercept (ng/mL) [95% CI]	Correlation coefficient (r)
109	1.09 [0.99 to 1.21]	0.03 [-0.08 to 0.13]	0.98

#### 15.6. Analytical Specificity

The specificity was assessed with the following cross-reactants.

Cross-reactant	Concentration tested (unit)	Mean %Cross reactivity
Testosterone	1000 ng/mL	0.31%
17 $\alpha$ -OH Progesterone	1000 ng/mL	0.60%
17 $\beta$ -Estradiol	100 ng/mL	0.79%
Estrone	3000 ng/mL	0.00%
Estriol	1000 ng/mL	0.00%
Cortisol	100 $\mu$ g/mL	0.00%
Pregnenolone	100 ng/mL	1.71%
5 $\alpha$ -dihydrotestosterone	1000 ng/mL	0.32%
11-deoxycortisol	1000 ng/mL	0.05%
Corticosterone	1000 ng/mL	0.12%

The following substances do not interfere with a bias of  $> \pm 15\%$  in the Progesterone ELISA when the concentrations are below the stated threshold presented in the following table.

Potentially Interfering Reagent	Threshold Concentration
Bilirubin, conjugated	15 mg/dL
Bilirubin, unconjugated	15 mg/dL
Haemoglobin	200 mg/dL
Total Protein	10 g/dL
Triglycerides	500 mg/dL

#### 15.7. Serum-plasma study

The Progesterone ELISA matrix comparison study was performed to evaluate the difference across tube types (serum separator tubes (SST), lithium heparin plasma, sodium heparin plasma and K2 EDTA plasma) versus the control samples (red top serum, without additive) following CLSI EP9-A3 guidelines. A total of 23 samples (all native) within the range of 0.26 to 40 ng/mL were evaluated. Linear regression analysis was performed on the comparative data:

Sample type	Slope [95% CI]	Intercept (ng/mL) [95% CI]	Correlation coefficient (r)
SST	0.93 [0.91 to 0.95]	0.01 [-0.20 to 0.21]	1.00
Lithium Heparin	0.95 [0.90 to 1.01]	0.16 [-0.41 to 0.74]	0.99
Sodium Heparin	0.95 [0.92 to 0.98]	0.12 [-0.20 to 0.45]	1.00
EDTA	0.98 [0.96 to 1.01]	-0.02 [-0.30 to 0.26]	1.00

## 16. LIMITATIONS OF USE

- As in the case of any diagnostic procedure, results must be interpreted in conjunction with the patient's clinical presentation and other information available to the physician.
- The performance characteristics of this assay have not been established in a paediatric population.
- Heterophilic antibodies in human serum can react with reagent immunoglobulins, interfering with *in vitro* immunoassays<sup>7</sup>. Patients routinely exposed to animals or to animal serum products can be prone to this interference and anomalous values may be observed.

## 17. WASTE MANAGEMENT

Reagents must be disposed of in accordance with local regulations.

All materials that have come into contact with samples and reagents must be disposed of in accordance with country, state and local regulations.

## 18. BIBLIOGRAPHY

1. Wu SP, Li R, DeMayo FJ. Progesterone Receptor Regulation of Uterine Adaptation for Pregnancy. *Trends Endocrinol Metab.* 2018 Jul;29(7):481-491.
2. Kasum M, Simunić V, Vrčić H, Stanić P, Orešković S, Beketić-Orešković L. Follicular progesterone elevations with ovulation induction for IVF. *Gynecol Endocrinol.* 2014 Aug;30(8):537-41.
3. Di Renzo GC, Giardina I, Clerici G, Brillo E, Gerli S. Progesterone in normal and pathological

pregnancy. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2016 Jul 1;27(1):35-48.

4. Feng C, Chen ZY, Zhang J, Xu H, Zhang XM, Huang XF. Clinical utility of serum reproductive hormones for the early diagnosis of ectopic pregnancy in the first trimester. *J Obstet Gynaecol Res.* 2013 Feb;39(2):528-35.
5. Rausch ME, Sammel MD, Takacs P, Chung K, Shaunik A, Barnhart KT. Development of a multiple marker test for ectopic pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2011 Mar;117(3):573-82.
6. Basic QC Practices On-line Course; <http://www.Westgard.com>.
7. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27–33

## 19. REVISION IDENTIFIER

Additions or changes to the IFU are indicated by grey highlighting.

## 20. PRODUCT COMPLAINTS AND TECHNICAL SUPPORT

For a patient/user/third party in the European Union and in countries with similar regulatory regime (Regulation 2017/746/EU on IVD Medical Devices); if, during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorised representative and to your national regulatory authority.

The manufacturer can be contacted through their customer service or technical support team. The contact details can be found below and on the company website: [www.diametra.com](http://www.diametra.com).

Ed. 03/2024

DCM006-11



DCM006-11

Ed. 03/2024

# PROGESTERONE ELISA

para el análisis de rutina

Determinación inmunoenzimática directa de la progesterona en suero o plasma humano

IVD

LOT

Ver etiqueta  
externa2°C  8°C

Σ = 96 pruebas

REF DKO006

## 1. FINALIDAD PREVISTA

Para uso en diagnóstico *in vitro*

Para uso profesional de laboratorio

Progesterone ELISA es un dispositivo manual de diagnóstico *in vitro* destinado a la determinación cuantitativa de la progesterona en suero o plasma humano de una población adulta. Los resultados deben usarse conjuntamente con otros datos clínicos y de laboratorio para ayudar en el diagnóstico y seguimiento de trastornos de los ovarios y la placenta.

## 2. IMPORTANCIA CLÍNICA

La progesterona es una hormona sintetizada en los ovarios, las glándulas suprarrenales y la placenta. Se difunde en la circulación, donde se une a las proteínas plasmáticas de unión a esteroides, como la albúmina y la proteína de unión a corticosteroides. A continuación, la progesterona se transporta hacia los órganos diana, entre los que se encuentran el hipotálamo, los ovarios y el útero, pero también el hígado, donde se cataboliza<sup>1</sup>.

La progesterona es fundamental en la fase inicial del embarazo, ya que es necesaria para la receptividad uterina para la implantación del embrión<sup>1</sup>. Durante la fase folicular temprana del ciclo menstrual femenino, la mayor parte de la progesterona circulante es de producción suprarrenal. Sin embargo, en la fase folicular tardía, se produce un aumento de los niveles séricos de progesterona liberados por el cuerpo lúteo, un folículo ovárico luteinizado<sup>1</sup>. Este aumento fisiológico de la progesterona es crucial para garantizar la función secretora del endometrio y una implantación embrionaria normal<sup>2</sup>. Lo hace controlando el sistema inmunitario materno para promover la inmunotolerancia materna y así evitar el rechazo del embrión, además de reducir la contractilidad uterina y mejorar la circulación uteroplacentaria para el correcto crecimiento del embrión<sup>3</sup>.

La medición de la progesterona es útil para ayudar a la evaluación de la ovulación y al diagnóstico de las disfunciones ováricas que podrían producir infertilidad. Además, la evaluación de la progesterona también se utiliza como ayuda en el diagnóstico del embarazo ectópico (EE), cuyos niveles son más bajos en el EE que en el embarazo intrauterino<sup>4,5</sup>.

Los niveles de progesterona son relativamente bajos en los niños y en las mujeres posmenopáusicas. Los hombres

adultos tienen niveles similares a los de las mujeres durante la fase folicular del ciclo menstrual.

## 3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

Progesterone ELISA es un ensayo enzimático inmunométrico competitivo (ELISA) en el que la progesterona (antígeno) de la muestra compete con la progesterona antigénica conjugada con peroxidasa de rábano picante (HRP) para unirse al número limitado de anticuerpos antiprogesterona recubiertos en la microplaca (fase sólida).

Tras la incubación, la separación ligada/libre se realiza mediante un simple lavado en fase sólida. A continuación, la enzima HRP de la fracción ligada reacciona con el sustrato (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y el sustrato de TMB, y desarrolla un color azul que cambia a amarillo cuando se añade la solución de detención (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). La intensidad del color es inversamente proporcional a la concentración de progesterona de la muestra.

La concentración de progesterona en la muestra se calcula mediante una curva de calibración.

## 4. REACTIVOS, MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN

### 4.1. Reactivos y materiales incluidos en el kit

1. Calibrators (5 viales de 1 mL cada uno)

ProClin >0,0015%

CAL0

CAL1

CAL2

CAL3

CAL4

CAL5

REF DCE002/0606-0

REF DCE002/0607-0

REF DCE002/0608-0

REF DCE002/0609-0

REF DCE002/0610-0

REF DCE002/0611-0

2. Control (1 vial de 1 mL)

ProClin >0,0015%

La concentración de control se indica en el certificado de análisis

REF DCE045/0603-0

3. Conjugate (1 vial de 22 mL)

Progesterona conjugada con peroxidasa de rábano picante (HRP), >0,0015% y BSA 0,1%

REF DCE002/0602-0

4. Coated Microplate (1 microplaca que se puede romper)  
Anticuerpo antiprogesterona recubierto en la microplaca

**REF DCE002/0603-0**

5. TMB Substrate (1 vial de 15 mL)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-TMB 0,26 g/L (evitar el contacto con la piel)

ProClin <0.0015%

**REF DCE004-0**

6. Stop Solution (1 vial de 15 mL)

Ácido sulfúrico 0,15 mol/L (evitar el contacto con la piel)

**REF DCE005-0**

7. 10X Conc. Wash Solution (1 vial de 50 mL)

Tampón fosfato 0,2 M pH 7,4, ProClin >0.0015%

**REF DCE054-0**

#### 4.2. Materiales necesarios pero no suministrados

Agua destilada


#### 4.3. Materiales auxiliares e instrumentación

Dispensador automático

Dispositivos de pipetas de precisión

Lector de microplacas (450 nm, 620-630 nm)

#### 5. ADVERTENCIAS

- Este kit está destinado al uso *in vitro* realizado exclusivamente por profesionales. No es para uso interno o externo en personas ni animales.
- Utilice el equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
- Siga las prácticas de laboratorio recomendadas (BPL) para manipular productos sanguíneos.
-  El material de origen animal utilizado en la preparación del kit se ha obtenido de animales certificados como sanos y la proteína bovina se ha obtenido de países donde no hay infección de EEB, pero estos materiales deben manejarse como potencialmente infecciosos.
- Algunos reactivos (calibradores, controles y conjugado y solución de lavado) contienen pequeñas cantidades de ProClin™ 300 (>0,0015%, <0,06%) como conservante. Evite el contacto con la piel o las mucosas.
- Clasificación según Reglamento (UE) n° 1272/2008 [CLP]

Sensibilización cutánea, categoría 1



Atención

Contiene: ProClin 300

#### Indicaciones de peligro:

H317 - Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

#### Consejos de prudencia:

P261 - Evitar respirar el polvo / el humo / el gas / la niebla / los vapores / el aerosol.

P280 - Llevar guantes / ropa de protección / equipo de protección para los ojos / la cara / los oídos.

P321 - Se necesita un tratamiento específico (ver instrucciones de primeros auxilios en esta etiqueta).

P333+P313 - En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.

P362+P364 - Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

- La solución de detención consiste en una solución diluida de ácido sulfúrico. El ácido sulfúrico es venenoso, corrosivo y puede ser tóxico si se ingiere. Para evitar quemaduras químicas, evite el contacto con la piel y los ojos.
- Evite la exposición del reactivo TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a la luz solar directa, a metales o a oxidantes. No congele la solución.

#### 6. PRECAUCIONES

- Siga estrictamente la secuencia de pasos de pipeteado que se indica en este protocolo. Los datos de rendimiento representados en este documento se obtuvieron utilizando los reactivos específicos indicados en estas instrucciones de uso.
- Todos los reactivos deben conservarse refrigerados entre 2 y 8 °C en su envase original. Las excepciones se indican claramente.
- Deje que todos los componentes del kit y las muestras alcancen la temperatura ambiente (22-28 °C) y mezcle bien antes de usarlos.
- No intercambie componentes del kit procedentes de diferentes lotes. Debe respetarse la fecha de caducidad impresa en las etiquetas de la caja y de los viales. No utilice ningún componente del kit después de su fecha de caducidad.
- Si el usuario utiliza un equipo automatizado, tiene la responsabilidad de asegurarse de que el kit ha sido debidamente validado para su uso previsto.
- La eliminación incompleta o imprecisa del líquido de los pocillos podría alterar la precisión del ensayo y/o aumentar el fondo. Para mejorar el rendimiento del kit en sistemas automáticos se recomienda aumentar el número de lavados.
- Es importante que el tiempo de reacción en cada pocillo se mantenga constante para obtener resultados reproducibles. El pipeteo de las muestras no debe prolongarse más de diez minutos para evitar errores en el ensayo. Si se necesitan más de 10 minutos, siga el mismo orden de dispensación. Si se utiliza más de una placa, se recomienda repetir la curva dosis-respuesta en cada placa.
- La adición de la solución de sustrato de TMB inicia una reacción cinética, que finaliza al añadir la solución de detención. Por lo tanto, el sustrato de TMB y la solución de detención deben añadirse en la misma secuencia para eliminar las posibles desviaciones temporales durante la reacción.
- Respete las directrices para realizar el control de calidad en los laboratorios médicos mediante el ensayo de controles y/o sueros combinados.
- Se requiere la máxima precisión en la reconstitución y dispensación de los reactivos.
- No se deben usar en el ensayo muestras contaminadas microbiológicamente, muy lipémicas, ictericas o hemolizadas.
- Los lectores de placas miden en vertical. No toque el fondo de los pocillos.
- Deben emplearse puntas desechables nuevas al pipetear reactivos de ensayo, incluidas las muestras, los calibradores y los controles, para mitigar el riesgo de contaminación por arrastre. De lo contrario, los resultados podrían no ser válidos.



## 7. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Almacene el kit a 2-8 °C en un lugar oscuro.

- El kit es estable a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en su etiqueta externa.
- Una vez abierto, el kit es estable a 2-8 °C durante 6 meses.
- La solución de lavado diluida es estable durante 30 días a 2-8 °C.

Nota importante: abra la bolsa que contiene la microplaca recubierta solo cuando esté a temperatura ambiente y ciérrela inmediatamente después de su uso.

## 8. RECOGIDA Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

El ensayo debe realizarse usando muestras de suero (tubos de muestras estándar o tubos que contienen gel de separación de suero) o plasma (heparina de litio, heparina de sodio o EDTA de potasio).

Almacenamiento de muestras	Duración
2-8 °C	96 horas
Ciclos de congelación/descongelación	3 ciclos

## 9. PROCEDIMIENTO

### 9.1. Preparación de calibradores y controles

Antes de utilizar, mezclar suavemente durante 5 minutos con un mezclador de rodillos.

Los calibradores están listos para utilizarse y tienen las siguientes concentraciones:

	C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>
ng/mL	0	0,2	1,0	5,0	15,0	40,0

Los controles están listos para su uso; la concentración del control está impresa en la etiqueta.

### 9.2. Preparación del conjugado

El conjugado está listo para usar.

### 9.3. Preparación de la solución de lavado

Diluir el contenido del vial «10X Conc. Wash Solution» con agua destilada hasta un volumen final de 500 mL antes de usarlo. Para volúmenes más pequeños, respete la relación de dilución de 1:10.

Es posible que observe la presencia de cristales dentro de la solución de lavado concentrada; en este caso, mezcle a temperatura ambiente hasta la completa disolución de los cristales. Para una mayor precisión, diluya todo el frasco de solución de lavado concentrada a 500 mL, teniendo cuidado también de transferir los cristales enjuagando completamente el frasco y luego mezclando hasta que los cristales se disuelvan completamente.

## 9.4. Preparación de las muestras

La determinación de la progesterona puede realizarse tanto en plasma como en suero humano.

Recoja la sangre mediante venopunción en vacutainers y separe el suero (después de la formación del coágulo) o el plasma de las células mediante centrifugación. No se recomienda el análisis de muestras de suero o plasma inactivadas por calor.

Almacenar la muestra a -20 °C si la determinación no se lleva a cabo el mismo día que se recoge la muestra. Antes de utilizar, mezclar suavemente durante 5 minutos con un mezclador de rodillos.

## 9.5. Procedimiento

- **Deje que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (22-28 °C) durante al menos 30 minutos.** Al finalizar el ensayo, almacene inmediatamente los reactivos a 2-8 °C: evite la exposición prolongada a la temperatura ambiente.
- Las tiras de micropocillos recubiertas no utilizadas deben dejarse de forma segura en el envoltorio de papel de aluminio que contiene desecante y almacenarse a 2-8 °C.
- Para evitar que se produzca una posible contaminación microbiana y/o química, los reactivos no utilizados nunca se deberán transferir a los viales originales.
- Como es necesario realizar la determinación por duplicado para mejorar la precisión de los resultados de la prueba, prepare dos pocillos para cada punto de la curva de calibración (C<sub>0</sub>-C<sub>5</sub>), dos para el control, dos para cada muestra y uno para el blanco.

Reactivo	Calibrador	Muestra/Control	Blanco
Calibrador C <sub>0</sub> -C <sub>5</sub>	20 µL		
Muestra / Control		20 µL	

Incubar a 25 °C durante 5 minutos.

Conjugado	200 µL	200 µL	
-----------	--------	--------	--

Incubar a 25 °C durante 1 hora.

Retire el contenido de cada pocillo, lave los pocillos 3 veces con 300 µL de solución de lavado diluida.

**Nota importante:** en cada paso de lavado, agite ligeramente la placa durante 5 segundos y elimine el exceso de solución golpeando la placa invertida sobre un paño de papel absorbente.

**Lavadora automática:** si utiliza un equipo automático, lave los pocillos al menos 5 veces.

Sustrato de TMB	100 µL	100 µL	100 µL
-----------------	--------	--------	--------

Incubar a temperatura ambiente (22÷28 °C) durante 15 minutos en la oscuridad.

Solución de detención	100 µL	100 µL	100 µL
-----------------------	--------	--------	--------

Agite suavemente la microplaca.

Compare la absorbancia (E) a 450 nm con la obtenida con una longitud de onda de referencia de 620-630 nm o con el blanco en un plazo de 5 minutos.

## 10. CONTROL DE CALIDAD

Las prácticas de laboratorio recomendadas (BPL) requieren el uso de muestras de control de calidad en cada serie de ensayos para comprobar el rendimiento del ensayo. Los controles deberán tratarse como muestras desconocidas y los resultados deberán analizarse con métodos estadísticos adecuados.

El kit de control incluido en el kit deberá ser probado como desconocido y está destinado a ayudar a evaluar la validez de los resultados obtenidos con cada placa de ensayo.

La concentración media de cada nivel de control se documenta en el informe de control de calidad que se incluye en cada kit. El nivel de concentración media se determina respecto de varios análisis, los cuales se realizan por duplicado en varios puntos diferentes de cada placa.

DiaMetra recomienda que los usuarios mantengan registros gráficos de los valores de control que se generan con cada ensayo, incluida la media de ejecución, la DE (desviación estándar) y el % CV. Esta información facilitará los ensayos de tendencia de los controles relacionados con el rendimiento de lotes de control actuales e históricos relativos a los datos de control de calidad proporcionados. La tendencia facilitará la identificación de los análisis que generan valores de control significativamente distintos de su intervalo medio.

Al interpretar los datos de control, los usuarios deberán tener en cuenta que este producto fue diseñado y desarrollado como un producto manual. El rango establecido en el certificado de control de calidad deberá ser adecuado para los ensayos que se realizan manualmente y en estricto cumplimiento del procedimiento de ensayo anteriormente descrito. Los profesionales del control de calidad reconocen que, como resultado de las diferencias en las condiciones y en las prácticas, siempre habrá variaciones entre laboratorios en los valores medios y en la precisión de las mediciones de control<sup>6</sup>.

## 11. CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Hay disponibles diversos paquetes de software de reducción de datos que se pueden utilizar para generar el promedio de la curva de calibración y para calcular el promedio de las concentraciones de muestras y controles desconocidos. Se recomienda un ajuste de curva logístico de 4 parámetros (4PL), **incluido el calibrador 0**.

También se puede preparar una curva de calibración en papel semilogarítmico mediante el trazado de la absorbancia media en el eje Y frente a la concentración de analitos en el eje X. El calibrador 0 debe incluirse en la curva de calibración. Lea el valor de absorbancia medio de cada muestra desconocida que se encuentra fuera de la curva.

Para que los resultados del ensayo se consideren válidos, los calibradores y el control del kit deben ajustarse a las especificaciones detalladas en el certificado de análisis específico del lote.

Si un control está fuera de su rango especificado, los resultados de la prueba asociados no son válidos y se deben volver a realizar pruebas de las muestras.

## 12. RANGO DE MEDICIÓN

El rango de medición del ensayo (AMR) es de 0,26-40 ng/mL.

Cualquier valor que sea inferior a 0,26 ng/mL debe informarse como "<0,26 ng/mL". Cualquier valor que sea superior a 40 ng/mL debe informarse como ">40 ng/mL".

## 13. METROLOGÍA Y TRAZABILIDAD

Los calibradores de este kit son trazables al patrón de progesterona del Instituto Nacional de Metrología de Japón (6003-a).

## 14. VALORES ESPERADOS

Los rangos siguientes se determinaron usando el Progesterone ELISA y se facilitan solo con fines informativos. El intervalo de referencia del 90 % para adultos aparentemente sanos se calcularon mediante un método no paramétrico siguiendo la orientación de CLSI C28-A3 "Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory".

Adultos	n	Mediana (ng/mL)	Valores esperados (ng/mL)
<b>Hombres</b>	116	0,8	<0,26 – 1,77
<b>Mujeres</b>			
<b>Fase folicular</b>	118	0,434	< 0,26 – 1,94
<b>Fase luteínica</b>	42	4,72	2,16 – 18,55
<b>Postmenopausia</b>	120	<0,26	<0,26 – 0,82
<b>Embarazo</b>			
<b>1<sup>er</sup> trimestre</b>	39	37,09	14,80 - >40,00
<b>2<sup>o</sup> trimestre</b>	39	>40,00	38,47 - >40,00
<b>3<sup>er</sup> trimestre</b>	40	>40,00	>40,00

Los rangos anteriores deberán ser considerados como directrices solamente; se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango previsto en función de su propia población de pacientes.

## 15. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Se muestran los datos de rendimiento representativos. Los resultados obtenidos en diferentes laboratorios pueden diferir.

### 15.1. Capacidad de detección

Se determinaron el límite de blanco (LoB), el límite de detección (LoD) y el límite de cuantificación (LoQ) siguiendo las pautas de CLSI EP17-A, "Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation", y usando 6 blancos y 6 muestras de bajo nivel.

Sensibilidad	Concentración
Límite de blanco (LoB)	0,02 ng/mL
Límite de detección (LoD)	0,11 ng/mL
Límite de cuantificación (LoQ)	0,26 ng/mL

### 15.2. Veracidad

Se ha demostrado la veracidad mediante una prueba de recuperación para Progesterone ELISA con el estándar de progesterona del Instituto Nacional de Metrología de Japón (código 6003-a).

### 15.3. Precisión

La precisión de Progesterone ELISA se determinó mediante la realización de un estudio de precisión complejo.

**Repetibilidad:** Se analizaron un total de 6 muestras de suero en 5 réplicas, una vez al día durante 5 días por 3 operadores.

A continuación se muestran los datos de un lote representativo:

Muestra	n	Medio conc. (ng/mL)	Intraprueba (repetibilidad)	
			DE	CV %
1	75	0,93	0,08	9,0 %
2	75	1,18	0,10	8,4 %
3	75	2,60	0,22	8,5 %
4	75	7,75	0,77	9,9 %
5	75	22,05	1,60	7,2 %
6	75	36,72	2,25	6,1 %

**Reproducibilidad:** Se analizaron un total de 6 muestras de suero en 5 réplicas, una vez al día durante 5 días por 3 operadores.

A continuación se muestran los resultados de los datos combinados de dos lotes:

Muestra	n	Medio conc. (ng/mL)	Dentro del laboratorio (reproducibilidad)	
			DE	CV %
1	150	0,89	0,11	12,5 %
2	150	1,14	0,15	13,0 %
3	150	2,44	0,37	15,1 %
4	150	7,41	1,06	14,3 %
5	150	21,54	2,08	9,7 %
6	150	36,43	2,33	6,4 %

### 15.4. Linealidad

La linealidad se evaluó en base a CLSI EP-06, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". Para la concentración de progesterona mediante Progesterone ELISA, la medición muestra linealidad para el intervalo de 0,17 a 41,02 ng/mL dentro de la desviación de linealidad permitida (ADL) de  $\pm 15$  %.

### 15.5. Comparación de métodos

El Progesterone ELISA se comparó con un ELISA cuantitativo disponible en el mercado, siguiendo CLSI EP-9A, "Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples". Se analizaron un total de 109 muestras, seleccionadas para representar un amplio rango de concentraciones de progesterona [0,17-35,84 ng/mL] usando cada uno de los métodos. Se realizó el análisis de regresión de Passing y Bablock en los datos comparativos:

n	Pendiente [IC del 95 %]	Intersección (ng/mL) [IC del 95 %]	Coefficiente de correlación (r)
109	1,09 [0,99 a 1,21]	0,03 [-0,08 a 0,13]	0,98

### 15.6. Especificidad analítica

La especificidad se evaluó con los siguientes reaccionantes cruzados. La especificidad se evaluó con los siguientes reaccionantes cruzados.

Reaccionante cruzado	Concentración probada (unidad)	Promedio en % de reactividad cruzada
Testosterona	1000 ng/mL	0,31 %
17 $\alpha$ -OH Progesterona	1000 ng/mL	0,60 %
17 $\beta$ -estradiol	100 ng/mL	0,79 %
Estrona	3000 ng/mL	0,00 %
Estriol	1000 ng/mL	0,00 %
Cortisol	100 $\mu$ g/mL	0,00 %
Pregnenolona	100 ng/mL	1,71 %
5 $\alpha$ -dihidrotestosterona	1000 ng/mL	0,32 %
11-desoxicortisol	1000 ng/mL	0,05 %
Corticosterona	1000 ng/mL	0,12 %

Las siguientes sustancias no interfieren con un sesgo de  $\pm 15\%$  en Progesterone ELISA cuando las concentraciones están por debajo del umbral indicado presentado en la siguiente tabla.

Reactivos que pueden interferir	Límite máximo de concentración
Bilirrubina, conjugada	15 mg/dL
Bilirrubina, no conjugada	15 mg/dL
Hemoglobina	200 mg/dL
Proteína total	10 g/dL
Triglicéridos	500 mg/dL

### 15.7. Estudio en suero-plasma

El estudio de comparación de la matriz de Progesterone ELISA se realizó para evaluar la diferencia entre los tipos de tubos (tubos separadores de suero [SST], plasma de heparina de litio, plasma de heparina sódica y plasma K2 EDTA) frente a las muestras de control (tapón rojo para suero, sin aditivos) siguiendo las directrices CLSI EP9-A3. Se evaluaron un total de 23 muestras (todas nativas) dentro del rango de 0,26 a 40 ng/mL. Se realizó un análisis de regresión lineal sobre los datos comparativos:

Tipo de muestra	Pendiente [IC del 95 %]	Intersección (ng/mL) [IC del 95 %]	Coefficiente de correlación (r)
SST	0,93 [0,91 a 0,95]	0,01 [-0,20 a 0,21]	1,00
Heparina de litio	0,95 [0,90 a 1,01]	0,16 [-0,41 a 0,74]	0,99
Heparina sódica	0,95 [0,92 a 0,98]	0,12 [-0,20 a 0,45]	1,00
EDTA	0,98 [0,96 a 1,01]	-0,02 [-0,30 a 0,26]	1,00

### 16. LÍMITES DE USO

- Como en cualquier procedimiento diagnóstico, los resultados se deberán interpretar junto con los hallazgos clínicos del paciente y otra información de la que el médico disponga.
- Las características de rendimiento de este análisis no se han establecido para una población pediátrica.
- Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar ante las inmunoglobulinas reactivas, que interfieren con los inmunoensayos *in vitro*. Los pacientes que se exponen habitualmente a animales o a productos de suero animal pueden ser propensos a esta interferencia y puede que se observen valores anómalos.

### 17. GESTIÓN DE RESIDUOS

Los reactivos deben eliminarse de acuerdo con la normativa local.

Todos los materiales que hayan entrado en contacto con las muestras y los reactivos deben eliminarse de acuerdo con la normativa nacional, estatal y local.

### 18. BIBLIOGRAFÍA

1. Wu SP, Li R, DeMayo FJ. Progesterone Receptor Regulation of Uterine Adaptation for Pregnancy. *Trends Endocrinol Metab.* 2018 Jul;29(7):481-491.
2. Kasum M, Simunić V, Vrčić H, Stanić P, Orešković S, Beketić-Orešković L. Follicular progesterone elevations with ovulation induction for IVF. *Gynecol Endocrinol.* 2014 Aug;30(8):537-41.
3. Di Renzo GC, Giardina I, Clerici G, Brillo E, Gerli S. Progesterone in normal and pathological pregnancy. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2016 Jul 1;27(1):35-48.
4. Feng C, Chen ZY, Zhang J, Xu H, Zhang XM, Huang XF. Clinical utility of serum reproductive hormones for the early diagnosis of ectopic pregnancy in the first trimester. *J Obstet Gynaecol Res.* 2013 Feb;39(2):528-35.
5. Rausch ME, Sammel MD, Takacs P, Chung K, Shaunik A, Barnhart KT. Development of a multiple marker test for ectopic pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2011 Mar;117(3):573-82.

6. Basic QC Practices On-line Course; <http://www.Westgard.com>.
7. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27–33.

mismo al fabricante y/o a su representante autorizado y al organismo regulador nacional.

Puede contactar con el fabricante a través del servicio de atención al cliente o del equipo de asistencia técnica. Los datos de contacto se encuentran a continuación y en el sitio web de la empresa: [www.diametra.com](http://www.diametra.com).

#### **19. IDENTIFICADOR DE REVISIÓN**














Las adiciones o cambios en las instrucciones de uso se han resaltado en gris.

**Ed. 03/2024**

**DCM006-11**

#### **20. RECLAMACIONES SOBRE PRODUCTOS Y ASISTENCIA TÉCNICA**

Para un paciente/usuario/tercero en la Unión Europea y en países con un régimen regulatorio similar: Reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro; si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se ha producido un incidente grave, informe del

	DE <i>In vitro</i> Diagnostikum ES Producto sanitario para diagnóstico <i>In vitro</i> FR Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> EN <i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device IT Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> PT Dispositivos medicos de diagnostico <i>in vitro</i>		DE Hergestellt von ES Elaborado por FR Fabriqué par EN Manufacturer IT Produttore PT Produzido por
	DE Achtung, Begleitdokumente ES Precaución, consulte los documentos adjuntos FR Attention, veuillez consulter les documents d'accompagnement EN Caution, consult accompanying documents IT Attenzione, consultare la documentazione allegata PT Atenção, consultar os documentos de acompanhamento	 yyyy-mm	DE Herstellungs datum ES Fecha de fabricacion FR Date de fabrication EN Date of manufacture IT Data di produzione PT Data de produção
 yyyy-mm-dd	DE Verwendbar bis ES Estable hasta (usar antes de último día del mes) FR Utiliser avant (dernier jour du mois indiqué) EN Use by (last day of the month) IT Utilizzare prima del (ultimo giorno del mese) PT Utilizar (antes ultimo dia do mês)		DE Biogefährdung ES Riesco biológico FR Risque biologique EN Biological risk IT Rischio biologico PT Risco biológico
	DE Gebrauchsanweisung beachten ES Consultar las instrucciones FR Consulter le mode d'emploi EN Consult instructions for use IT Consultare le istruzioni per l'uso PT Consultar instruções para uso		DE Chargenbezeichnung ES Código de lote FR Numero de lot EN Batch code IT Codice del lotto PT Código do lote
 $\Sigma = xx$	DE Ausreichend für "n" Tests ES Contenido suficiente para "n" tests FR Contenu suffisant pour "n" tests EN Contains sufficient for "n" tests IT Contenuto sufficiente per "n" saggi PT Contém o suficiente para "n" testes		DE Inhalt ES Contenido del estuche FR Contenu du coffret EN Contents of kit IT Contenuto del kit PT Conteúdo do kit
 Max Min	DE Temperaturbereich ES Limitación de temperatura FR Limites de température de conservation EN Temperature limitation IT Limiti di temperatura PT Temperaturas limites de conservação		DE Bestellnummer ES Número de catálogo FR Références du catalogue EN Catalogue number IT Numero di Catalogo PT Número do catálogo
	DE Vor direkter Sonneneinstrahlung schützen ES Mantener alejado de la luz solar FR Tenir à l'écart de la lumière du soleil EN Keep away from sunlight IT Tenere lontano dalla luce solare PT Mantenha longe da luz solar		