

17-OH-Progestérone ELISA

Test immuno-enzymatique pour le dosage quantitatif de la 17-OH-progestérone dans les sérum et plasma humains

REF **RE52071**

 **96**

   **2-8 °C**

EU: **IVD**  U.S.: *For in-vitro diagnostic use only. 510(k) exempt.*



I B L I N T E R N A T I O N A L G M B H

Flughafenstrasse 52a
D-22335 Hamburg, Germany

Phone: +49 (0)40-53 28 91-0
Fax: +49 (0)40-53 28 91-11

IBL@IBL-International.com
www.IBL-International.com

1. BUT DU TEST

Test Immuno-enzymatique pour le dosage quantitatif à but de *diagnostic in-vitro* de la 17-OH-progesterone dans le sérum et plasma humains.

2. SOMMAIRE ET INTRODUCTION

La 17- α -hydroxyprogesterone (17-OH-progesterone, 17-OHP) est une hormone stéroïde produite dans la corticosurrénale et les gonades. Bien que la 17-OH-progesterone ait un faible effet progestatif, elle a tout de même un intérêt clinique car est le dernier précurseur du 11-désoxycortisol (Composé S, CpS). CpS est formé à partir de la 17-OH-progesterone par hydroxylation du carbone C 21. L'activité enzymatique de l'hydrolase 21 dans la corticosurrénale peut ainsi être suivie par dosage de la 17-OHP dans le sang.

Dans le cas d'une déficience en hydrolase 21, la plupart du temps due à une hyperplasie surrénale congénitale, la 17-OHP est excrétée de façon excessive et provoque une élévation de sa concentration dans le sang. Une déficience en hydrolase 11 montre par contre une augmentation modérée de cette molécule. Le dosage de la 17-OHP est donc utile pour différencier une hyperplasie surrénale congénitale.

Chez les femmes adultes non enceintes, le niveau de 17-OHP dans le sang dépend de la phase menstruelle. Les concentrations sont plus importantes durant la phase lutéale que pendant la phase folliculaire, car la 17-OHP -comme la progesterone- est sécrétée par le follicule ovarien et le corps jaune.

De plus, les niveaux de 17-OHP varient durant la journée, corrélativement à la sécrétion de cortisol. On trouve une concentration maximale dans les échantillons prélevés entre minuit et 8h du matin.

Chez les hommes adultes, il y a quelques indications de fluctuations semblables.

Pendant la grossesse, la 17-OHP est sécrétée en grande quantité par le fœtus, le placenta et le cortex surrénal, puis est transmise dans la voie sanguine maternelle et fœtale. Les valeurs de 17-OHP augmentent fortement après la 32ème semaine de grossesse, atteignant une concentration environ 4 fois supérieure à celle observée pendant la phase lutéale. On peut également doser la 17-OHP à partir du cordon ombilical des nouveaux-nés.

3. PRINCIPE DU TEST

Le test immuno-enzymatique sur phase solide (ELISA) est basé sur le principe de compétition. La quantité inconnue d'antigènes présents dans l'échantillon et une quantité fixe d'antigènes conjugués à une enzyme entrent en compétition pour les sites de fixation des anticorps coatés dans les puits. Après incubation, les puits sont lavés pour arrêter la réaction de compétition. L'intensité de la couleur développée suivant la réaction substrat est inversement proportionnelle à la quantité d'antigène présente dans l'échantillon. Les résultats des échantillons peuvent être déterminés directement à partir de la courbe étalon.

4. PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Seulement prévu au diagnostic in-vitro et à l'usage professionnel.
1. Lire les instructions complètement et avec attention avant de commencer le test. Utiliser la version valide de la fiche technique incluse dans le kit. S'assurer que tout a été bien compris.
2. Dans le cas de dommages importants de l'emballage du kit, veuillez contacter IBL ou votre fournisseur sous forme écrite, une semaine au plus tard après avoir reçu le kit. N'utilisez pas les composants abîmés pour un test, mettez-les de côté et en sécurité pour les besoins éventuels liés à la plainte.
3. Suivez le numéro du lot et la date de péremption. Ne pas mélanger les réactifs de différents lots. Ne pas utiliser de réactifs périmés.
4. Suivre les bonnes pratiques de laboratoire et les directives de sécurité. Porter des blouses de laboratoire, gants en latex à usage unique et lunettes de protection si nécessaire.
5. Les réactifs de ce kit contiennent du matériel dangereux pouvant irriter les yeux et la peau. Consulter le MATERIEL FOURNI et les étiquettes pour les détails. Les Fiches de Données de Sécurité pour ce produit sont disponibles sur le site Internet IBL ou sur demande particulière à IBL.
6. Les réactifs chimiques préparés ou utilisés doivent être traités comme matériel dangereux en accord avec les directives et règlements nationaux de sécurité pour tout matériel à risque.
7. Eviter tout contact avec la solution d'arrêt. Elle peut provoquer des irritations et brûlures cutanées.
8. Tous les réactifs de ce kit contenant des sérums ou plasma humains ont été testés et confirmés négatifs à HIV I/II, HbsAg et HCV. Tous les réactifs doivent être considérés comme potentiellement contaminants et utilisés en tant que tel.

5. STOCKAGE ET STABILITE

Le kit est envoyé à température ambiante et doit être stocké à 2-8°C. À conserver à l'abri de la chaleur ou de la lumière directe. Le stockage et la stabilité des échantillons et réactifs préparés sont indiqués dans les chapitres correspondants.

Les barrettes de la microplaque sont stables jusqu'à la date de péremption du kit en étant stockées à 2-8°C dans le sachet déjà ouvert, mais hermétiquement refermé.

6. COLLECTE ET STOCKAGE DES ECHANTILLONS

Sérum, Plasma (EDTA)

Observer les précautions habituelles de prises de sang. Il est important de préserver l'intégrité chimique d'un échantillon sanguin, de sa collecte jusqu'à son analyse. Ne pas utiliser d'échantillons fortement hémolysés, ictériques ou lipémiques. Les échantillons d'apparence turbide doivent être centrifugés avant analyse pour éliminer toute particules gênantes.

Stockage:	2-8°C	≤ -20°C (Aliquots)	À conserver à l'abri de la chaleur ou de la lumière directe. Eviter tout cycles de congélation / décongélation répétés.
Stabilité:	7 j	3 mois	

7. MATERIEL FOURNI

Quantité	Symbole	Composant
1 x 12x8	MTP	Microplaque Barrettes sécables. Coatée avec un anticorps anti-IgG lapin (chèvre, polyclonal), Antisérum 17-OH-Progesterone.
1 x 20 mL	ENZCONJ	Conjugué enzymatique Coloré en jaune. Prêt à l'emploi. Contient: 17-OH-Progesterone, conjuguée à HRP, tampon phosphate, stabilisateurs.
1 x 2.0 mL 6 x 0.5 mL	CAL A-G	Étalon A-G 0; 0.15; 0.5; 1.5; 3.0; 7.5; 20 ng/mL 0.45; 1.5; 4.5; 9.1; 22.7; 60.6 nmol/L Prêts à l'emploi. Étalon A = Etalon zéro (sérum sans stéroïdes). Contient: 17-OH-Progesterone, sérum humain, stabilisateurs.
2 x 0.5 mL	CONTROL 1+2	Contrôle 1+2 Prêts à l'emploi. Consulter les concentrations / gammes acceptables sur les étiquettes.
1 x 50 mL	WASHBUF CONC	Tampon de lavage Concentré (20x) Contient: tampon phosphate, Tween, stabilisateurs.
1 x 10 mL	TMB SUBS	Solution Substrat TMB Prête à l'emploi. Contient: TMB, Tampon, stabilisateurs.
1 x 10 mL	TMB STOP	Solution d'Arrêt TMB Prête à l'emploi. 1 M H ₂ SO ₄ .
3 x	FOIL	Feuille adhésive

8. MATERIEL NECESSITE MAIS NON FOURNI

1. Pipettes (Multipette Eppendorf ou matériel similaire, CV < 3%) Volumes: 5; 25; 50; 100; 500 µL
2. Agitateur orbital (200-900 rpm) (par ex. EAS 2/4, SLT)
3. Vortex
4. Micropipette à 8-canaux avec réservoirs pour réactifs.
5. Bouteille pour lavage, système automatique ou semi-automatique pour le lavage de microplaque
6. Lecteur de microplaque capable de lire l'absorbance à 450 nm (longueur d'onde de référence 600-650 nm)
7. Eau bidistillée ou désionisée
8. Papier absorbant, embouts de pipette et chronomètre

9. NOTES POUR LA PROCEDURE

1. Toute manipulation impropre des échantillons ou modification de la procédure du test peut influencer les résultats. Les volumes indiqués pour pipeter, les temps d'incubation, températures et étapes de pré-traitement doivent être strictement suivis selon les instructions. N'utiliser que des pipettes et appareils calibrés.

2. Une fois que le test a commencé, toutes les étapes doivent être suivies sans interruption. S'assurer que les réactifs, matériels et appareils nécessaires soient prêts au moment approprié. Amener tous les réactifs et échantillons à température ambiante (18-25 °C) et mélanger doucement en tournant chaque flacon de réactif liquide et d'échantillon avant emploi. Mélanger les réactifs sans former de mousse.
3. Eviter toute contamination des réactifs, pipettes et puits/tubes. Utiliser des nouveaux embouts de pipette en plastique pour chaque réactif, étalon ou échantillon. Ne pas interchanger les bouchons. Toujours refermer les flacons non utilisés. Ne pas réutiliser les puits/tubes ou réactifs.
4. Il est recommandé de doser les échantillons en double pour pouvoir identifier d'éventuelles erreurs de pipetage.
5. Utiliser un schéma de pipetage pour vérifier la répartition appropriée de la plaque.
6. Le temps d'incubation affecte les résultats. Tous les puits doivent être manipulés dans le même ordre et au même intervalle de temps. Il est recommandé d'utiliser une micropipette à 8-canaux pour pipeter une même solution dans tous les puits.
7. Le lavage de la microplaque est important. Des puits mal lavés provoqueront des résultats erronés. Il est recommandé d'utiliser une pipette multicanaux ou un système de lavage de microplaque automatique. Ne pas laisser sécher les puits entre les incubations. Ne pas gratter les puits coatés pendant le rinçage ou l'aspiration. Rincer et ajouter les réactifs avec précaution. Lors du rinçage, vérifier que tous les puits soient régulièrement remplis avec le tampon de lavage, et qu'aucun reste ne soit ensuite visible.
8. L'humidité affecte les puits/tubes coatés. Ne pas ouvrir le sachet avant que celui-ci n'ait atteint la température ambiante. Les puits/tubes inutilisés doivent être rangés immédiatement dans le sachet refermé avec le dessiccateur.

10. PREPARATIONS PREALABLES AU TEST

10.1. Préparation des composants lyophilisés et concentrés

Diluer/ dissoudre	Composant		Diluant	Relation	Remarques	Stockage	Stabilité
15 mL	Tampon de lavage	jusqu'à 300 mL	Eau bidist.	1:20	Mélanger vigoureusement.	2-8 °C	4 sem

10.2. Dilution des échantillons

Les échantillons suspectés de contenir une concentration supérieure à celle de l'étalon le plus concentré doivent être dilués avec l'étalon A.

11. PROCEDURE DU TEST

1.	Pipeter 25 µL de chaque étalon, contrôle et échantillon dans les puits respectifs de la microplaque.
2.	Pipeter 200 µL de Conjugué enzymatique dans chaque puits.
3.	Couvrir la plaque avec une feuille adhésive. Agiter la plaque avec précaution. Incuber 60 min à TA (18-25 °C).
4.	Retirer la feuille adhésive. Jeter la solution d'incubation. Laver la plaque 3 x avec 250 µL de tampon de lavage dilué. Egoutter l'excès de solution en frappant la plaque retournée sur du papier absorbant.
5.	Utiliser une micropipette à 8 canaux si possible pour l'ajout des solutions substrat et d'arrêt. Pipeter ces solutions à la même cadence. Utiliser un déplacement positif et éviter la formation de bulles d'air.
6.	Pipeter 100 µL de Solution Substrat TMB dans chaque puits.
7.	Incuber 30 min à RT (18-25 °C).
8.	Arrêter la réaction substrat en ajoutant 100 µL de Solution d'arrêt TMB dans chaque puits. Mélanger rapidement le contenu en agitant la plaque.
9.	Mesurer la densité optique avec un photomètre à 450 ± 10 nm (longueur d'onde de référence: 600-650 nm) dans les 30 min suivant l'ajout de la solution d'arrêt.

12. CONTROLE QUALITE

Les résultats du test ne sont valides que si l'essai a été réalisé en suivant les instructions. De plus, l'utilisateur doit strictement suivre les règles de bonne pratique de laboratoire (GLP, Good Laboratory Practice) ou autres lois/standards applicables. Tous les étalons et contrôles du kit doivent être trouvés dans les gammes acceptables indiquées dans le certificat de Contrôle Qualité (QC). Si ces critères ne sont pas remplis, le test est non valide et il doit être répété. Chaque laboratoire devrait utiliser des échantillons connus comme contrôle supplémentaire.

Il est recommandé de participer aux programmes de contrôle qualité appropriés.

En cas de déviation des résultats, vérifier les origines éventuelles techniques: dates de péremption des réactifs (préparés), conditions de stockage, pipettes, appareils, conditions d'incubation et méthodes de lavage.

13. CALCUL DES RESULTATS

Les densités optiques (OD) des étalons (axe y, linéaire) sont reportées en fonction de leurs concentrations (axe x, logarithmique) soit sur papier graphique semi-logarithmique soit en utilisant une méthode automatisée. Une bonne analyse est obtenue avec les méthodes cubic spline, Logistics 4 Paramètres ou Logit-Log.

Pour le calcul de la courbe étalon, appliquer chaque signal des étalons (une valeur apparemment fautive d'un double dosage peut ne pas être prise en compte et peut être remplacée par une valeur plus plausible).

La concentration des échantillons peut être lue à partir de la courbe étalon.

Les échantillons montrant une concentration supérieure à celle de l'étalon le plus concentré doivent être dilués de la façon décrite dans les PREPARATIONS PREALABLES AU TEST et testés de nouveau.

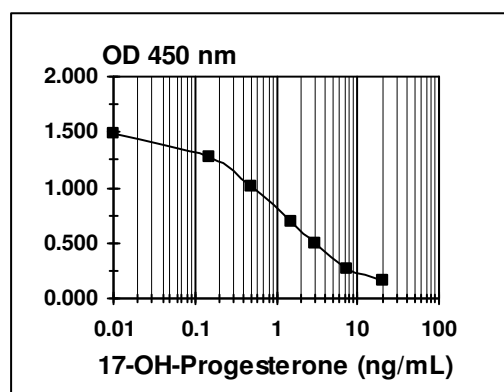
Conversion:

17-OH-Progesterone (ng/mL) x 3.03 = nmol/L

Courbe Etalon Typique

(Exemple. Ne pas utiliser pour vos calculs!)

Étalon	17-OH-Progesterone (ng/mL)	Moyenne OD	OD/OD _{max} (%)
A	0.00	1.487	100.00
B	0.15	1.276	85.80
C	0.50	1.015	68.30
D	1.50	0.691	46.50
E	3.00	0.496	33.30
F	7.50	0.274	18.40
G	20.00	0.152	10.20



14. VALEURS ATTENDUES

Les résultats ne peuvent pas être l'unique raison de conséquences thérapeutiques. Ils doivent être corrélés à d'autres observations cliniques et tests diagnostics.

Des sujets apparemment sains ont montré les valeurs suivantes:

17-OH-Progesterone (ng/mL)						
femme				Homme		
Phase	Moyenne	Gamme	N	Moyenne	Gamme	N
Phase folliculaire	0.51	0.3 – 1.0	16	0.75	0.05 - 1.6	48
Phase lutéale	0.96	0.2 - 2.9	16			
sous stimulation d'ACTH	1.4	< 3	17			
Grossesse (3ème trimestre)	9.1	1.8 – 20.0	52			

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs normales.

15. LIMITES DE LA PROCEDURE

Les composants sanguins suivants n'ont pas d'effets significatifs (+/- 20 % par rapport aux valeurs attendues) sur les résultats du test jusqu'aux concentrations indiquées ci-dessous:

Hémoglobine	8.33 mg/mL
Bilirubine	0.33 mg/mL
Triglycérides	0.25 mg/mL

16. PERFORMANCE

Spécificité Analytique (Réactivité Croisée)	Substance	Réactivité Croisée (%)	Réactivité croisée d'autres substances testées ≤ 0.001 %	
	17 α -OH-Prégnenolone	1.7		
	Progestérone	1.4		
	11-Désoxy-Cortisol	1.3		
	Désoxy-Corticostérone	0.12		
	Cortisol	0.013		
	Prégnenolone	0.012		
Sensibilité Analytique (Limite de Détection)	0.03 ng/mL	Signal moyen (Etalon zéro) - 2SD		
Précision	Gamme (ng/mL)	CV (%)		
Intra-Essai	2.44 – 11.41	2.8 – 4.9		
Inter-Essai	0.26 – 5.74	5.8 – 9.2		
Linéarité	Gamme (ng/mL)	Dilution en série jusqu'au	Gamme (%)	
	1.56 – 9.23	1:16	80 - 120	
Récupération	Moyenne (%)	Gamme (%)	% Récupération après enrichissement	
	101	80 - 121		
Comparaison de méthode versus CPG/SM	Trousse IBL = 1.31 x CPG/SM – 0.45		r = 0.94; n = 22	

17. LITTÉRATURE DE REFERENCE DU PRODUIT

- Sahin Y and Kelestimur F. 17-Hydroxyprogesterone responses to gonadotrophin-releasing hormone agonist busarelin and adrenocorticotrophin in polycystic ovary syndrome: investigation of adrenal and ovarian cytochrome P450c17 α dysregulation. *Hum. Reprod.*, **12**: 910-913 (1997)
- Liovic M et al. CYP17 gene analysis in hyperandrogenised women with and without exaggerated 17-hydroxyprogesterone response to ovarian stimulation. *J. Endocrinol. Invest.*, **20**: 189-193 (1997)
- Oriola J et al. Rapid screening method for detecting mutations in the 21-hydroxylase gene. *Clin. Chem.*, **43**: 557-561 (1997)
- Ibanez L et al. Ovarian 17-hydroxyprogesterone hyperresponsiveness to gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist challenge in women with polycystic ovary syndrome is not mediated by luteinizing hormone hypersecretion: evidence from GnRH agonist and human chorionic gonadotropin stimulation testing. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **81**: 4103-4107 (1996)
- Bernini GP et al. 17-Hydroxyprogesterone response to ACTH in bilateral and monolateral adrenal incidentalomas. *J. Endocrinol. Invest.*, **19**: 745-752 (1996)
J. Assist. Reprod. Genet., **13**: 681-682 (1996)
- Glock JI et al. The relationship of corpus luteum volume to relaxin, estradiol, progesterone, 17-hydroxyprogesterone and human chorionic gonadotropin levels in early normal pregnancy. *Early Pregnancy*, **1**: 206-211 (1995)
- Berkow R, Fletcher AJ, Beers MH. Congenital Adrenal Hyperplasia. In "The Merck Manual of Diagnosis and Therapy", pp 2224-2226, Merck & Co., Inc., 16th edition 1992
- Chrousos GP, Loriaux DL, Mann DL, Cutler GB. Lateonset 21-Hydroxylase deficiency mimicking idiopathic hirsutism or polycystic ovarian disease. *Ann. Int. Med.* **96**: 143 (1982).
- Schnakenburg K, Bindlingmaier F, Knorr D. 17-hydroxy-progesterone, androstendione, and testosterone in normal children and in prepubertal patients with congenital adrenal hyperplasia. *Eur. J. Pediatr.* **133**: 259 (1980).

Symbols / Symbole / Symbôles / Símbolos / Símbolos / Σύμβολα

	Cat.-No.: / Kat.-Nr.: / No.- Cat.: / Cat.-No.: / N.º Cat.: / N.-Cat.: / Αριθμός-Κατ.:
	Lot-No.: / Chargen-Bez.: / No. Lot: / Lot-No.: / Lote N.º: / Lotto n.: / Αριθμός -Παραγωγή:
	Use by: / Verwendbar bis: / Utiliser à: / Usado por: / Usar até: / Da utilizzare entro: / Χρησιμοποιείται από:
	No. of Tests: / Kitgröße: / Nb. de Tests: / No. de Determ.: / N.º de Testes: / Quantità dei tests: / Αριθμός εξετάσεων:
	Concentrate / Konzentrat / Concentré / Concentrar / Concentrado / Concentrato / Συμπύκνωμα
	Lyophilized / Lyophilisat / Lyophilisé / Liofilizado / Liofilizado / Liofilizzato / Λυοφιλιασμένο
	In Vitro Diagnostic Medical Device. / In-vitro-Diagnostikum. / Appareil Médical pour Diagnostics In Vitro. / Dispositivo Médico para Diagnóstico In Vitro. / Equipamento Médico de Diagnóstico In Vitro. / Dispositivo Medico Diagnostico In vitro. / Ιατρική συσκευή για In-Vitro Διάγνωση.
	Evaluation kit. / Nur für Leistungsbewertungszwecke. / Kit pour évaluation. / Juego de Reactivos para Evaluació. / Kit de avaliação. / Kit di valutazione. / Κιτ Αξιολόγησης.
	Read instructions before use. / Arbeitsanleitung lesen. / Lire la fiche technique avant emploi. / Lea las instrucciones antes de usar. / Ler as instruções antes de usar. / Leggere le istruzioni prima dell'uso. / Διαβάστε τις οδηγίες πριν την χρήση.
	Keep away from heat or direct sun light. / Vor Hitze und direkter Sonneneinstrahlung schützen. / Garder à l'abri de la chaleur et de toute exposition lumineuse. / Manténgase alejado del calor o la luz solar directa. / Manter longe do calor ou luz solar directa. / Non esporre ai raggi solari. / Να φυλάσσεται μακριά από θερμότητα και άμεση επαφή με το φως του ηλίου.
	Store at: / Lagern bei: / Stocker à: / Almacene a: / Armazenar a: / Conservare a: / Αποθήκευση στους:
	Manufacturer: / Hersteller: / Fabricant: / Productor: / Fabricante: / Fabricante: / Παραγωγός:
	Caution! / Vorsicht! / Attention! / ¡Precaución! / Cuidado! / Attenzione! / Προσοχή!
<p>Symbols of the kit components see MATERIALS SUPPLIED. Die Symbole der Komponenten sind im Kapitel KOMPONENTEN DES KITS beschrieben. Voir MATERIEL FOURNI pour les symbôles des composants du kit. Símbolos de los componentes del juego de reactivos, vea MATERIALES SUMINISTRADOS. Para símbolos dos componentes do kit ver MATERIAIS FORNECIDOS. Per i simboli dei componenti del kit si veda COMPONENTI DEL KIT. Για τα σύμβολα των συστατικών του κιτ συμβουλευτείτε το ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ.</p>	

IBL AFFILIATES WORLDWIDE

	IBL International GmbH Flughafenstr. 52A, D-22335 Hamburg, Germany	Tel.: + 49 (0) 40 532891 -0 Fax: -11 E-MAIL: IBL@IBL-International.com WEB: http://www.IBL-International.com
	IBL Deventer B.V. Zutphenseweg 55, NL-7418 AH Deventer, The Netherlands	Tel.: + 31 570-66 15 15 Fax: -60 73 86 E-MAIL: IBL@IBL-International.com WEB: http://www.IBL-International.com
	IBL - Transatlantic Corp. 288 Wildcat Road, Toronto, Ontario M3J 2N5	Toll free: +1 (866) 645 -6755 Tel.: +1 (416) 645 -1703 Fax: -1704 E-MAIL: IBL@IBL-Transatlantic.com WEB: http://www.IBL-Transatlantic.com

LIABILITY: Complaints will only be accepted in written and if all details of the test performance and results are included (complaint form available from IBL or supplier). Any modification of the test procedure or exchange or mixing of components of different lots could negatively affect the results. These cases invalidate any claim for replacement. 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 kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer.