

Progesterone II

Progesterona
12145383 122

100 testes

Português

Função

Imunoensaio para a determinação quantitativa in vitro da progesterona em soro e plasma humanos.

O imunoensaio de electroquimioluminescência (electrochemiluminescence immunoassay ou "ECLIA") foi concebido para ser utilizado nos analisadores de imunoensaios Elecsys 1010/2010 e MODULAR ANALYTICS E170 (Módulo Elecsys) da Roche.

Características

O gestagénio progesterona é uma hormona esteróide com um peso molecular de 314,5 daltons. A progesterona é formada essencialmente nas células do corpo lúteo e, durante a gravidez, na placenta. A concentração de progesterona está relacionada com o desenvolvimento e regressão do corpo lúteo. Enquanto a progesterona é praticamente indetectável na fase folicular do ciclo menstrual, observa-se um aumento do nível de progesterona um dia antes da ovulação. Ocorre um aumento da síntese da progesterona durante a fase lútea. Na 2.ª metade do ciclo, o pregnanodiol é excretado na urina enquanto principal produto de degradação da progesterona.¹ A progesterona leva à conversão da mucosa uterina num tecido rico em glândulas (fase de secreção) para preparar a implantação intra-uterina do ovo fertilizado. Na gravidez, a progesterona inibe a contracção do miométrio. Na glândula mamária, a progesterona (juntamente com os estrogénios) promove a capacidade de proliferação e secreção dos alvéolos.^{1,2,3} A determinação da progesterona é utilizada no diagnóstico de fertilidade para detecção de ovulação e avaliação da fase lútea.^{2,4}

Princípio do teste

Princípio de competição. Duração total do ensaio: 18 minutos.

- 1ª incubação: 30 µl da amostra - na presença de um anticorpo biotinilado monoclonal específico anti-progesterona e de um derivado de progesterona marcado com complexo de ruténio^a - são incubados com danazol para a libertação da progesterona. A progesterona da amostra compete com o derivado de progesterona marcado pelos locais de ligação do anticorpo.
- 2ª incubação: Após a incorporação das micropartículas revestidas de estreptavidina, o complexo formado liga-se à fase sólida pela interacção da biotina e da estreptavidina. A quantidade de derivado de progesterona marcado fixado à fase sólida é inversamente proporcional ao teor de progesterona na amostra.
- A mistura de reacção é aspirada para a célula de leitura, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eléctrodo. Os elementos não ligados são então removidos com ProCell. A aplicação de uma corrente eléctrica ao eléctrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador.
- Os resultados são determinados com base numa curva de calibração, que é gerada especificamente pelo analisador por uma calibração de 2 pontos, e uma curva principal incluída no código de barras do reagente.

a) Complexo Tris(2,2'-bipiridil)ruténio(II) (Ru(bpy)₃²⁺)

Reagentes - soluções de trabalho

Dispositivo de reagentes Elecsys Progesterone II, Ref. 12145383 - 100 testes

- M Micropartículas revestidas de estreptavidina (tampa transparente), 1 frasco, 6,5 ml:
Micropartículas revestidas de estreptavidina, 0,72 mg/ml; capacidade de ligação: 470 ng biotina/mg micropartículas; conservante.
- R1 Anticorpo anti-progesterona-biotina (tampa cinzenta), 1 frasco, 10 ml:
Anticorpo monoclonal biotinilado anti-progesterona (ratinho) 0,15 mg/l; tampão fosfato 25 mmol/l, pH 7,0; conservante.
- R2 Péptido de progesterona-Ru(bpy)₃²⁺ (tampa preta), 1 frasco, 8 ml:
Progesterona (de origem vegetal) acoplada a um péptido sintético marcado com complexo de ruténio, 10 ng/ml; tampão fosfato 25 mmol/L, pH 7,0; conservante.

Precauções e advertências

Para utilização em diagnóstico in vitro.

Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais.

Elimine todos os resíduos de acordo com os regulamentos locais.

Ficha de segurança fornecida a pedido, para uso profissional.

Evite a formação de espuma com todos os reagentes e com todo o tipo de amostras (amostras de pacientes, calibradores e controlos).

Preparação dos reagentes

Os reagentes do dispositivo foram incluídos numa unidade pronta a ser utilizada que não pode ser separada.

Toda a informação necessária ao correcto funcionamento é introduzida no analisador através dos respectivos códigos de barras do reagente.

Conservação e estabilidade

Conservar a 2-8°C.

Coloque o dispositivo de reagentes Elecsys Progesterone II **na vertical** para assegurar a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática, antes da utilização.

Estabilidade:

em frasco fechado a 2-8°C:	até ao fim do prazo de validade indicado
após abertura a 2-8°C:	12 semanas
no analisador MODULAR ANALYTICS E170:	8 semanas
no analisador Elecsys 2010:	8 semanas
no analisador Elecsys 1010:	4 semanas (guardado alternadamente no frigorífico e no analisador - temperatura ambiente 20-25°C; até 20 horas no total quando aberto)

Colheita e preparação das amostras

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

O soro é colhido em tubos de amostra padrão ou com gel separador. Plasma tratado com heparina-Li ou -Na, EDTA-K₃, citrato de sódio e fluoreto de sódio/oxalato de potássio. Se for utilizado citrato de sódio, os resultados têm de ser corrigidos em + 10%.

Critério: Recuperação dentro de 90-110% do valor sérico ou declive 0,9-1,1 + intercepção dentro de $\pm 2 \times$ sensibilidade analítica + coeficiente de correlação > 0,95.

Estabilidade: 5 dias a 2-8°C, 6 meses a -20°C. Congelar apenas uma vez.

Estabilidade do soro colhido em tubos com gel separador: 48 horas a 2-8°C (conforme os dados fornecidos pelo fabricante).

Os diferentes tipos de amostras incluídos na lista foram testados com base numa selecção de tubos de colheita de amostras comercialmente disponíveis na altura em que o teste foi realizado, i.e. nem todos os tubos dos diferentes fabricantes disponíveis no mercado foram testados. Os sistemas de colheita de amostras de diferentes fabricantes podem, por sua vez, conter materiais diferentes que, em alguns casos, podem afectar os resultados dos testes. Ao utilizar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras), consulte as instruções do fabricante dos tubos.

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio. Não utilize amostras inactivadas por calor. Não utilize amostras e controlos estabilizados com azida.

Antes da determinação, certifique-se de que as amostras dos pacientes, os calibradores e os controlos estão à temperatura ambiente (20-25°C).

Devido a possíveis efeitos de evaporação, as amostras, os calibradores e os controlos colocados no analisador deverão ser analisados no prazo de duas horas.

Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".

Materiais necessários (mas não fornecidos)

- Ref. 12145391, Elecsys Progesterone II CalSet, para 4 x 1 ml
- Ref. 11731416, Elecsys PreciControl Universal, para 2 x 3 ml cada de PreciControl Universal 1 e 2
- Ref. 03609987, Elecsys Diluent MultiAssay, 2 x 18 ml diluente de amostra ou Ref. 03028542, Elecsys Diluent Estradiol/Progesterone, 2 x 22 ml de diluente de amostras
- Equipamento normal de laboratório
- Analisadores Elecsys 1010/2010 ou MODULAR ANALYTICS E170



Progesterone II

cobas

Progesterona

Acessórios para os analisadores Elecsys 1010 e 2010:

- Ref. 11662988, Elecsys ProCell, 6 x 380 ml de tampão do sistema
- Ref. 11662970, Elecsys CleanCell, 6 x 380 ml de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 11930346, Elecsys SysWash, 1 x 500 ml de aditivo para água de lavagem
- Ref. 11933159, Adaptador para SysClean
- Ref. 11706829, Elecsys 1010 AssayCup, 12 x 32 cubetes de reacção ou Ref. 11706802, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 de cubetes de reacção
- Ref. 11706799, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 pontas de pipeta

Acessórios para o analisador MODULAR ANALYTICS E170:

- Ref. 12135019, ProCell M, 1 x 2 l de tampão do sistema
- Ref. 12135027, CleanCell M, 1 x 2 l de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 03023141, PC/CC-Cups, 50 cubetes para pré-aquecimento do ProCell M e do CleanCell M antes de usar
- Ref. 03005712, ProbeWash M, 12 x 70 ml de solução de limpeza para finalização da análise e lavagem durante a mudança de reagentes
- Ref. 12102137, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 tabuleiros x 84 cubetes de reacção ou pontas de pipeta, sacos para lixo
- Ref. 03023150, Wasteliner, sacos para lixo
- Ref. 03027651, SysClean Adapter M

Acessórios para todos os analisadores:

- Ref. 11298500, Elecsys SysClean, 5 x 100 ml de solução de limpeza do sistema

Apenas disponível nos EUA:

- Ref. 12145413, Elecsys Progesterone II CalCheck, 3 intervalos de concentração

Realização do ensaio

Para assegurar a correcta execução do ensaio, é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter informações mais específicas sobre o ensaio feito no analisador.

A ressuspensão das micropartículas é efectuada automaticamente antes de usar. Introduza os parâmetros específicos do teste através dos códigos de barras dos reagentes. Se, em algum caso excepcional, não for possível ler o código de barras, o código numérico de 15 dígitos deverá ser introduzido manualmente.

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010: Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20°C e coloque-os no disco dos reagentes (20°C) do analisador. Evite a formação de espuma. O sistema regula **automaticamente** a temperatura dos reagentes e a abertura/fecho dos frascos.

Analisador Elecsys 1010: Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20-25°C e coloque-os no disco dos reagentes/amostras do analisador (temperatura ambiente a 20-25°C). Evite a formação de espuma. **Abra** as tampas dos frascos **manualmente** antes de usar e **feche manualmente** depois de usar. Conserve a 2-8°C depois de usar.

Calibração

Rastreabilidade: Este método foi padronizado utilizando o ID-GC/MS ("Isotope Dilution Gas Chromatography Mass Spectrometry").⁵

Cada dispositivo de reagentes Elecsys Progesterone II contém um código de barras com informações específicas para a calibração do lote de reagentes em questão. A curva principal previamente definida é adaptada ao analisador através do dispositivo Elecsys Progesterone II CalSet.

Frequência das calibrações: Uma calibração por lote de reagentes utilizando reagente recém-colocado (i.e., dentro de um máximo de 24 horas após ter sido registado no analisador). Devem ser feitas as seguintes recalibrações:

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010:

- passado 1 mês (28 dias) quando se utiliza o mesmo lote de reagentes
- passados 7 dias (quando se utiliza o mesmo dispositivo de reagentes no analisador)

Analisador Elecsys 1010:

- com cada dispositivo de reagentes
- passados 7 dias (temperatura ambiente de 20-25°C)

- passados 3 dias (temperatura ambiente de 25-32°C)

Para todos os analisadores:

- conforme necessário: p. ex., em resultados de ensaios de controlo de qualidade fora dos limites especificados.

O software do analisador verifica automaticamente a validade da curva e alerta para eventuais desvios.

Controlo de qualidade

Para o controlo de qualidade, utilize o Elecsys PreciControl Universal 1 e 2. Adicionalmente pode ser utilizado outro material de controlo adequado.

Efectue os controlos dos diversos intervalos de concentração como determinações simples, pelo menos uma vez em cada 24 horas, quando o teste estiver a ser utilizado, uma vez por dispositivo de reagentes e a seguir a cada calibração. Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos.

Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.

Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração de analito de cada amostra (em nmol/l, ng/ml ou µg/l).

Factores de conversão: nmol/l x 0,314 = ng/ml (µg/l)
ng/ml x 3,18 = nmol/l

Limitações – interferências

O ensaio não é afectado pela icterícia (ditaurato de bilirrubina < 54 mg/dl ou < 923 µmol/l), hemólise (Hb < 1,0 g/dl ou < 0,621 mmol/l), lipemia (Intralipid < 720 mg/dl) e biotina < 82 nmol/l ou < 20 ng/ml.

Critério: recuperação dentro de ± 10% do valor inicial.

Nos doentes em tratamento com doses elevadas de biotina (i.e.

> 5 mg/dia), as amostras só deverão ser colhidas no mínimo 8 horas após a última administração de biotina.

Não foi observada interferência do factor reumatóide até uma concentração de 2.000 UI/ml.

Foram efectuados testes in vitro com 18 fármacos frequentemente utilizados.

Destes, apenas a fenilbutazona em níveis de dosagem terapêuticos causou interferência com o ensaio (diminuição dos valores de progesterona).

Tal como acontece com todos os testes que contêm anticorpos monoclonais de rato, este teste pode produzir resultados errados em amostras colhidas em pacientes tratados com este tipo de anticorpos ou que os receberam para fins de diagnóstico.

Em casos isolados, podem ocorrer interferências devido a títulos extremamente elevados de anticorpos para o ruténio.

O teste contém aditivos que minimizam estes efeitos.

Em casos isolados, podem ocorrer interferências devido a títulos extremamente elevados de anticorpos para a estreptavidina.

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do paciente, o exame clínico e outros resultados.

Intervalo de medição

0,095-191 nmol/l ou 0,030-60,00 ng/ml (definido pelo limite de detecção inferior e pelo máximo da curva principal). Os valores inferiores ao limite de detecção são indicados como < 0,095 nmol/l ou < 0,030 ng/ml e os valores superiores ao intervalo de medição como > 191 nmol/l ou > 60,00 ng/ml (ou até 1.910 nmol/l ou 600 ng/ml no caso das amostras diluídas 10 vezes).

Diluição

As amostras com concentrações de progesterona superiores ao intervalo de medição podem ser diluídas manualmente com o dispositivo Elecsys Diluent Estradiol/Progesterone ou automaticamente com o dispositivo Elecsys Diluent MultiAssay nos analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 1010/2010. A diluição recomendada é de 1:10. A concentração da amostra diluída deve ser > 6 nmol/l (> 2 ng/ml). Após a diluição manual, multiplique o resultado pelo factor de diluição. Após a diluição pelos analisadores, o software do analisador MODULAR ANALYTICS E170 e dos analisadores Elecsys 1010/2010 toma automaticamente em consideração a diluição ao calcular a concentração da amostra.

A concentração endógena do analito no diluente (≤ 3,2 nmol/l ou ≤ 1 ng/ml), para diluições acima do intervalo de medição, não é tomada em consideração.



Progesterone II

Progesterona

Valores teóricos

Em estudos com o teste Elecsys Progesterone II, obtiveram-se os seguintes valores de progesterona:

Indivíduos analisados	N	Percentis			
		50°	5-95°	50°	5-95°
		nmol/l		ng/ml	
Homens	33	1,8	0,7-4,3	0,6	0,2-1,4
Mulheres					
• Fase folicular	192	2,1	0,6-4,7	0,7	0,2-1,5
• Fase ovulatória	13	3,9	2,4-9,4	1,2	0,8-3,0
• Fase lútea	158	36	5,3-86	11	1,7-27
• Pós-menopausa	89	1,0	0,3-2,5	0,3	0,1-0,8

Ensaio multicêntrico com Elecsys Progesterone II, Maio de 1999

Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores teóricos para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

Dados específicos sobre o desempenho

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho no analisadores. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Precisão

A reprodutibilidade foi determinada com reagentes Elecsys, uma pool de soros humanos e controles de acordo com um protocolo modificado (EP5-A) do NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards): 6 vezes por dia durante 10 dias (n = 60), precisão intra-ensaio no analisador MODULAR ANALYTICS E170, n = 21. Obtiveram-se os seguintes resultados:

Elecsys 1010/2010	Precisão intra-ensaio			Precisão total				
	Média	DP	CV	DP	CV	CV		
Amostra	nmol/l	ng/ml	nmol/l	ng/ml	%	nmol/l	ng/ml	%
SH ^b 1	4,99	1,57	0,13	0,04	2,4	0,29	0,09	5,4
SH 2	38,2	12,0	0,54	0,17	1,5	1,53	0,48	4,1
SH 3	96,0	30,2	2,42	0,76	2,7	4,90	1,54	5,5
PC U ^c 1	28,1	8,83	0,60	0,19	2,3	1,21	0,38	4,6
PC U2	66,1	20,8	1,11	0,35	1,7	2,45	0,77	3,7

b) SH = soro humano

c) PC U = PreciControl Universal

MODULAR ANALYTICS E170

Amostra	Precisão intra-ensaio			Precisão total						
	Média	DP	CV	Média	DP	CV				
	nmol/l	ng/ml	nmol/l	ng/ml	%	nmol/l	ng/ml	%		
SH 1	2,31	0,73	0,07	0,02	2,9	2,52	0,79	0,12	0,04	4,8
SH 2	9,57	3,01	0,13	0,04	1,4	10,0	3,13	0,28	0,09	2,8
SH 3	103	32,4	0,96	0,30	0,9	112	35,3	2,23	0,70	2,0
PC U1	15,6	4,89	0,17	0,05	1,1	16,7	5,26	0,55	0,17	3,3
PC U2	61,5	19,3	0,45	0,14	0,7	64,7	20,4	1,19	0,38	1,8

Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)

0,095 nmol/l (0,03 ng/ml)

O limite de detecção representa o nível de analito mais baixo mensurável passível de ser distinguido de zero. É calculado como o valor situado dois desvios padrão (DP) acima do padrão mais baixo (calibrador principal, padrão 1 + 2 DP, precisão intra-ensaio, n = 21).

Comparação dos métodos

Uma comparação do teste Elecsys Progesterone II (y) com o teste Elecsys Progesterone (x) utilizando amostras clínicas, teve como resultado as seguintes correlações (ng/ml):

Número de amostras medidas: 88

Passing/Bablok⁶

y = 0,91x + 0,29

τ = 0,933

DP (md68) = 0,43

Regressão linear

y = 0,90x + 0,50

r = 0,998

Sy.x = 0,45

As concentrações das amostras variaram entre aprox. 0,6 e 140 nmol/l (aprox. 0,2 e 44 ng/ml).

Especificidade analítica

Para o derivado de anticorpo utilizado, observaram-se as seguintes reações cruzadas (em %):

Androstendiol	0,002
Androstendiona	0,136
Corticosterona	0,687
Cortisol	0,005
Danazol	0,002
DHEA-S	0,009
D-(-)-Norgestrel	0,008
Estradiol	0,009
Etisterona	0,002
Diacetato de etinodiol	n.d. ^d
Medroxiprogesterona	0,812
Noretindrona	0,010
Acetato de noretindrona	n.d.
Testosterona	0,020
4-Pregnen-11β-17α-diol-3,20-diona	0,338
11-Desoxicorticosterona	0,296
11-Desoxicortisol	0,392
5-α-dihidrotestosterona	0,040
5-β-dehidroprogesterona	20,7
5α-Pregnen-3β-ol-20-ona	0,858
5β-Pregnen-3α-ol-20-ona	0,211
Acetato de 6α-metil-17α-hidroxi-progesterona	0,257
6α-metilprednisolona	n.d.
17α-hidroxi-pregnenolona	0,018
17α-hidroxi-progesterona	1,30
20α-hidroxi-4-pregnen-3-ona	0,016

d) n.d. = não detectável

Sensibilidade funcional

0,48 nmol/l (0,15 ng/ml)

A sensibilidade funcional é a concentração de analito mais baixa que pode ser medida de modo reprodutível com um coeficiente de variação inter-ensaio < 20%.

Bibliografia

1. Johnson MR, Carter G, Grint C, Lightman SL. Relationship between ovarian steroids, gonadotrophins and relaxin during the menstrual cycle. *Acta Endocrinol* 1993;129:121-125.
2. Runnebaum B, Rabe T. *Gynäkologische Endokrinologie und Fortpflanzungsmedizin* Springer Verlag 1994; Band 1:36-38,70,116 Band 2:137,360,398-399,408-409,422-423. ISBN 3-540-57345-3, ISBN 3-540-57347-x.
3. Juhl UM, Rippegather G, Weller J, Zawta B. Important Facts on Reproduction Medicine/Fertility Diagnosis, Questions and Answers, 1994. Boehringer Mannheim, Cat. No. 1322958.
4. Guillaume J, Benjamin F, Sicuranza B, Wang CF, Garcia A, Friberg J. Maternal serum levels of estradiol, progesterone and h-Choriongonadotropin in ectopic pregnancy and their correlation with endometrial histologic findings. *Surg Gynecol Obstet* 1987;165:9-12.
5. Thienspont LM, Verhseghe PG, Van Brussel KA, De Leenheer AP. Efforts by industry toward standardization of serum estradiol-17β measurements. *Clin Chem* 1998;44(3):671-674.
6. Bablok W, et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:783-790.

NOTA PARA O COMPRADOR: LIMITED LICENSE

A aquisição deste produto permite que o comprador o utilize exclusivamente para diagnóstico in vitro humano pela tecnologia ECL. Nenhuma patente geral ou outra licença de qualquer tipo, à exceção deste direito específico de uso de compra, é concedida por este meio. Este produto não pode ser usado



Progesterone II

Progesterona

pele comprador na pesquisa/desenvolvimento em ciências da vida, em testes de auto-diagnóstico, na identificação/desenvolvimento de drogas ou em qualquer utilização ou teste veterinário, alimentar, de água ou ambiental.

Para mais informações, consulte o manual do operador adequado ao analisador, as folhas de aplicação respectivas, a informação do produto e os folhetos informativos de todos os componentes necessários.

cobas

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem. As alterações dos parâmetros de teste do código de barras do reagente que já foram introduzidas devem ser editadas manualmente.

©2005 Roche Diagnostics



 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

