

# Progesterone II

Progesterone

Elecys® 1010/2010/MODULAR ANALYTICS E170

12145383

100 tests

## Domaine d'utilisation

Test immunologique pour la détermination quantitative *in vitro* de la progesterone dans le sérum et le plasma.

Ce test par électrochimiluminescence "ECLIA" est adapté aux dosages immunologiques sur les analyseurs Elecys 1010/2010 et MODULAR ANALYTICS E170 (module Elecys) de Roche.

Tous les appareils ne sont pas disponibles dans tous les pays

## Généralités\*

La progesterone est une hormone stéroïdienne d'un poids moléculaire d'env. 314,5 daltons. La progesterone est synthétisée essentiellement dans le corps jaune et le placenta.

Le taux de progesterone est en corrélation avec le développement et la dégradation du corps jaune. A peine détectable dans la phase folliculaire du cycle menstruel, le taux de progesterone augmente le jour qui précède l'ovulation pour voir sa synthèse s'accroître pendant la phase lutéale. Au cours de la deuxième partie du cycle, le prégnandiol, produit principal de sa dégradation, est excrété dans l'urine.<sup>2</sup>

La progesterone provoque une transformation glandulaire dans la muqueuse utérine (phase de sécrétion) et prépare ainsi la nidation intra-utérine éventuelle d'un œuf fécondé. Lors de la grossesse, la progesterone empêche la contraction du muscle utérin. Elle stimule, conjointement avec les œstrogènes, le développement des seins et la capacité de sécrétion des alvéoles mammaires.<sup>2,3,4</sup>

Le dosage de la progesterone est utilisé comme paramètre "fertilité" pour déterminer la période de l'ovulation et la phase lutéale.<sup>1,3</sup>

## Principe\*

**Principe de compétition.** Durée totale du cycle analytique : 18 minutes.

- 1<sup>ère</sup> incubation : une prise d'essai de 30 µl est mise en présence d'un anticorps monoclonal anti-progesterone spécifique marqué à la biotine et d'un peptide-progesterone marqué au ruthénium\*\*, et incubée avec le danazol pour libérer la progesterone sérique. La progesterone endogène et la progesterone exogène entrent en compétition vis à vis des sites de liaison de l'anticorps.
- 2<sup>e</sup> incubation : les microparticules tapissées de streptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle. Le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine. La quantité de progesterone fixée à la phase solide est inversement proportionnelle à la concentration en progesterone dans l'échantillon.
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell.
- Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.
- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Une courbe de référence est mémorisée dans le code barres du réactif et est réajustée, pour l'analyseur utilisé, par une calibration en deux points.

\*\* Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>: Tris(2,2'-bipyridyl)-ruthénium(II)

## Réactifs - Contenu du coffret et concentrations

Coffret Progesterone II Elecys, Réf. 12145383, 100 tests

- M Microparticules tapissées de streptavidine, 1 flacon contenant 6,5 ml (bouchon transparent) : microparticules tapissées de streptavidine 0,72 mg/ml, capacité de liaison : 470 ng de biotine/mg de microparticules ; conservateur.
- R1 Anticorps anti-progesterone~biotine, 1 flacon contenant 10 ml (bouchon gris) : anticorps anti-progesterone monoclonal de souris marqué à la biotine 0,15 mg/l ; tampon phosphate 25 mmol/l, pH 7,0 ; conservateur.
- R2 Peptide progesterone~Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>, 1 flacon contenant 8 ml (bouchon noir) : peptide-progesterone synthétique marqué au ruthénium et couplé à de la progesterone végétale, 10 ng/ml ; tampon phosphate 25 mmol/l, pH 7,0 ; conservateur.

## Précautions d'emploi et mises en garde

Pour diagnostic *in vitro*.

Observer les précautions habituelles de manipulation en laboratoire.

L'élimination de tous les déchets doit être effectuée conformément aux dispositions légales.

## Préparation des réactifs\*

Les réactifs contenus dans le coffret sont prêts à l'emploi et ne peuvent être utilisés séparément.

Toutes les informations nécessaires au déroulement du test sont mémorisées sur les codes barres des flacons réactifs et sont saisies automatiquement.

## Conservation et stabilité\*

Ranger le coffret Progesterone II Elecys entre 2 et 8°C en position verticale, de manière à ce que toutes les microparticules soient rassemblées lors de l'homogénéisation qui précède l'analyse.

Stabilité :

Avant ouverture, entre 2 et 8°C : jusqu'à la date de péremption indiquée

Après ouverture, entre 2 et 8°C : douze semaines

Sur E170 et Elecys 2010 : huit semaines

Sur Elecys 1010 : quatre semaines (conservation alternée au réfrigérateur et dans l'appareil à 20–25°C, flacons ouverts au maximum 20 heures).

## Prélèvement et préparation des échantillons\*

Seuls les échantillons suivants ont été testés :

Sérum recueilli sur tubes standard ou contenant un gel séparateur.

Plasma recueilli sur héparinate de lithium, de sodium, EDTA tripotassique, citrate de sodium, fluorure de sodium ou oxalate de potassium. En cas d'utilisation de plasma recueilli sur citrate de sodium, les résultats obtenus doivent être corrigés de +10%.

(Critère d'acceptabilité : recouvrement 90–110 % de la valeur du sérum ou pente 0,9–1,1 + coefficient de corrélation >0,95 + ordonnée à l'origine < ± 2 x limite de détection analytique.)

Stabilité : cinq jours entre 2 et 8°C, six mois à –20°C. Ne congeler qu'une fois.<sup>5</sup>

En cas d'utilisation de sérum recueilli sur tube à gel séparateur, se conformer aux indications données par le fabricant des tubes.<sup>5</sup>

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Ne pas utiliser d'échantillons inactivés par la chaleur.

Ne pas utiliser d'échantillons ou solutions de contrôle stabilisés par de l'azide.

S'assurer avant l'analyse que la température des échantillons, des calibrateurs et des contrôles se situe à 20–25°C.

En raison des risques d'évaporation, il est recommandé de doser les échantillons, les contrôles et les calibrateurs dans les deux heures qui suivent leur mise en place sur les analyseurs.

## Progesterone II Elecys - Réactifs et matériel nécessaires\*

Contenu du coffret

Réf. 12145383 - Coffret Progesterone II Elecys pour 100 tests :

- M Microparticules tapissées de streptavidine
- R1 Anticorps anti-progesterone~biotine
- R2 Peptide-progesterone~Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>

Réactifs et matériel auxiliaires nécessaires

- Réf. 12145391, Progesterone CalSet II Elecys pour 4 x 1 ml
  - Réf. 11731416, PreciControl Universal Elecys : PreciControl Universal 1 pour 2 x 3 ml et PreciControl Universal 2 pour 2 x 3 ml
  - Réf. 03028542, Diluent Estradiol/Progesterone Elecys, 2 x 22 ml, milieu de dilution de l'échantillon
  - Équipement habituel de laboratoire
  - Elecys 1010/2010 ou MODULAR ANALYTICS E170
  - Matériel auxiliaire pour Elecys 1010 et Elecys 2010 :
    - Réf. 11662988, ProCell Elecys, 6 x 380 ml, tampon système
    - Réf. 11662970, CleanCell Elecys, 6 x 380 ml, solution de lavage pour la cellule de mesure
    - Réf. 11930346, SysWash Elecys, 1 x 500 ml, additif à la solution de lavage
    - Réf. 11933159, Adaptateur pour SysClean
    - Réf. 11706829, Assay Cup Elecys 1010, 12 x 32 cuvettes réactionnelles ou Réf. 11706802, Assay Cup Elecys 2010, 60 x 60 cuvettes réactionnelles
    - Réf. 11706799, Assay Tip Elecys 2010, 30 x 120 embouts de pipette
  - Matériel auxiliaire pour MODULAR ANALYTICS E170 :
    - Réf. 12135019, ProCell M, 1 x 2 l de tampon système
    - Réf. 12135027, CleanCell M, 1 x 2 l, solution de lavage pour la cellule de mesure
    - Réf. 03023141, PC/CC-Cups, 50 godets pour la thermorégulation de ProCell M et de CleanCell M
    - Réf. 03005712, ProbeWash M, 12 x 70 ml, solution de lavage pour la fin de la série et pour le rinçage en cas de changement de réactif
    - Réf. 12102137, AssayCups/AssayTips Combimagazin M, 48 blocs de 84 tubes à essai/embouts de pipettes, sacs pour déchets
    - Réf. 03023150, WasteLiner (sacs pour déchets)
    - Réf. 03027651, SysClean Adapter M, adaptateur pour SysClean M
- Pour les trois appareils :
- Réf. 11298500, SysClean Elecys, 5 x 100 ml, solution de lavage du système
- Disponible uniquement aux États-Unis :
- Réf. 12145413, Progesterone II CalCheck Elecys, à trois niveaux de concentration

## Mode opératoire\*

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer au mode d'emploi de l'appareil utilisé et vérifier que les réactifs, les solutions auxiliaires et les consommables nécessaires à la réalisation du test sont disponibles en quantité suffisante.

L'analyseur effectue automatiquement l'homogénéisation des microparticules. Les informations spécifiques du test mémorisées sur l'étiquette à code barres doivent être saisies. Si, exceptionnellement, le code barres ne peut être lu par l'appareil, saisir manuellement la série des 15 chiffres inscrits sur l'étiquette.

**E170/Elecys 2010** : porter les réactifs réfrigérés à env. 20°C avant le chargement et les placer dans le plateau réactifs de l'appareil thermostaté à 20°C. Éviter la formation de mousse. L'analyseur gère le contrôle de la température, l'ouverture et la fermeture des flacons.

**Elecys 1010** : porter les réactifs réfrigérés à env. 20–25°C et les placer dans le plateau réactifs/échantillons de l'appareil (température ambiante 20–25°C). Éviter la formation de mousse. Ouvrir les flacons avant la mise en route de l'analyseur, puis les refermer et les replacer au réfrigérateur après la série de dosages.

## Calibration\*

Le coffret Progesterone II Elecys a été calibré par rapport à la méthode DI/CG-SM (dilution isotopique couplée à la chromatographie en phase gazeuse et révélée en spectrométrie de masse).<sup>5,6</sup>

Le code barres du flacon réactif contient toutes les informations spécifiques de la calibration du lot, la courbe de référence y est mémorisée. Le réajustement de la courbe pour l'appareil utilisé est effectué à l'aide des deux solutions Progesterone II CalSet.

**Fréquence de calibration** : Effectuer une calibration par lot en utilisant un réactif frais (ayant été enregistré au maximum 24 heures par l'appareil).

Une nouvelle calibration est recommandée pour :

**E170/Elecys 2010** :

- après un mois (28 jours) pour un même lot de réactifs
- après sept jours pour un même flacon de réactif resté sur l'appareil

**Elecys 1010** :

- à chaque nouveau coffret
- après sept jours à une température ambiante de 20–25°C
- après trois jours à une température ambiante de 25–32°C

**E 170, Elecys 1010 et Elecys 2010** :

- quand elle s'avère nécessaire : par ex. si les résultats des sérums de contrôle se situent en dehors des limites de confiance.
- Validation de la calibration** : Le logiciel de l'appareil vérifie la validité de la courbe et affiche les anomalies.

# Progesterone II

Progesterone

Elecsys® 1010/2010/MODULAR ANALYTICS E170

Français

## Contrôle de qualité\*

Utiliser PreciControl Universal 1 et PreciControl Universal 2 Elecsys, ou d'autres sérums de contrôle appropriés.

Il est recommandé de doser les sérums de contrôle 1 et 2 en simple au moins une fois toutes les 24 heures pendant une routine, pour chaque nouveau coffret et lors d'une calibration. Cette fréquence peut varier selon les exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance.

Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats sont situés en dehors des limites de confiance.

## Expression des résultats\*

E170, Elecsys 1010 et Elecsys 2010 calculent automatiquement le taux de progesterone de chaque échantillon. Les résultats sont exprimés au choix en nmol/l, ng/ml ou µg/l.

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

## Limites d'utilisation - Interférences\*

La bilirubine (Ditaurat < 540 mg/dl ou 54 mg/dl), l'hémolyse (Hb < 1,0 g/dl), la lipémie (Intralipid < 7,2 g/l ou 720 mg/dl), la biotine (< 20 ng/ml) n'influencent pas le résultat (critère d'acceptabilité : recouvrement ± 10% par rapport à la valeur initiale).

Chez les patients traités par de fortes doses de biotine (> 5 mg/jour), il est recommandé d'effectuer le prélèvement de l'échantillon au moins 8 heures après la dernière administration.<sup>5</sup>

Le résultat n'est pas influencé par le facteur rhumatoïde jusqu'à 2000U/ml.

L'influence de 18 médicaments fréquemment administrés a été recherchée *in vitro* : seul le phénylbutazone conduit, aux doses thérapeutiques journalières, à des taux de progesterone par défaut.

Comme pour tous les tests contenant des anticorps monoclonaux de souris, on peut obtenir des résultats erronés avec des sérums de patients ayant reçu des anticorps monoclonaux de souris dans un but thérapeutique ou de diagnostic. Dans de rares cas, des titres extrêmement élevés d'anticorps anti-ruthénium peuvent conduire à des interférences.

Le coffret Progesterone II Elecsys contient des additifs qui mini-misent ces interférences. Des titres extrêmement élevés d'anticorps anti-streptavidine qui apparaissent isolément peuvent conduire à des interférences.

Pour le diagnostic, les résultats du test Progesterone II Elecsys doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats des autres examens.

## Domaine de mesure\*

0,095–191 nmol/l ou 0,030–60,0 ng/ml (défini par la limite de détection et le maximum de la courbe de référence). Les taux situés au-dessous de la limite de détection sont exprimés de la manière suivante : < 0,095 nmol/l ou < 0,030 ng/ml, et les taux situés au-dessus du domaine de mesure de la manière suivante : > 191 nmol/l ou > 60,0 ng/ml ou jusqu'à 1910 nmol/l ou 600 ng/ml pour les échantillons dilués (1/10).

## Dilution des échantillons

Les échantillons présentant une concentration > 191 nmol/l ou > 60,0 ng/ml peuvent être dilués à l'aide de Diluent Estradiol/Progesterone (facteur de dilution recommandé : 1/10). La concentration obtenue avec l'échantillon dilué doit être > 6 nmol/l ou 2 ng/ml. Multiplier le résultat obtenu par le facteur de dilution. La progesterone endogène du diluant (< 3,2 nmol/l ou < 1 ng/ml) n'est pas prise en compte si la concentration en progesterone de l'échantillon se situe au-dessus du domaine de mesure.

## Domaine de référence\*

Des études réalisées avec le test Progesterone II Elecsys ont permis d'établir les résultats suivants :

	n	Percentiles			
		50°	5–95°	50°	5–95°
nmol/l		nmol/l		ng/ml	
Hommes	33	1,8	0,7–4,3	0,6	0,2–1,4
Femmes					
• Phase folliculaire	192	2,1	0,6–4,7	0,7	0,2–1,5
• Ovulation	13	3,9	2,4–9,4	1,2	0,8–3,0
• Phase lutéale	158	36	5,3–86	11	1,7–27
• Postménopause	89	1,0	0,3–2,5	0,3	0,1–0,8

(Evaluation multicentrique Progesterone II Elecsys, 5/99)

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs de référence et établir ses propres valeurs selon la population examinée.

## Performances analytiques\*

### Précision

Les résultats indiqués ci-dessous ont été obtenus avec des analyseurs Elecsys (les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci).

La précision a été déterminée à l'aide de pools de sérums humains et des sérums de contrôle, chaque échantillon a été analysé 6 fois par jour pendant 10 jours (n = 60) selon un protocole modifié (EP5-A) du N.C.C.L.S. (National Committee for Clinical Laboratory Standards) ; précision intra-série sur E170 : n = 21.

Echantillon	Elecsys 1010/2010		Précision intra-série			Précision inter-série		
	nmol/l	ng/ml	nmol/l	ng/ml	CV %	nmol/l	ng/ml	CV %
Sérum humain 1	4,99	1,57	0,13	0,04	2,4	0,29	0,09	5,4
Sérum humain 2	38,2	12,0	0,54	0,17	1,5	1,53	0,48	4,1
Sérum humain 3	96,0	30,2	2,42	0,76	2,7	4,90	1,54	5,5
PreciControl U 1	28,1	8,83	0,60	0,19	2,3	1,21	0,38	4,6
PreciControl U 2	66,1	20,8	1,11	0,35	1,7	2,45	0,77	3,7

2142236001 06 05



VAR

Echantillon	Précision intra-série					Précision inter-série				
	nmol/l	ng/ml	nmol/l	ng/ml	CV %	nmol/l	ng/ml	nmol/l	ng/ml	CV %
Sérum humain 1	2,31	0,73	0,07	0,02	2,9	2,52	0,79	0,12	0,04	4,8
Sérum humain 2	9,57	3,01	0,13	0,04	1,4	10,0	3,13	0,28	0,09	2,8
Sérum humain 3	103	32,4	0,96	0,30	0,9	112	35,3	2,23	0,70	2,0
PreciControl U 1	15,6	4,89	0,17	0,05	1,1	16,7	5,26	0,55	0,17	3,3
PreciControl U 2	61,5	19,3	0,45	0,14	0,7	64,7	20,4	1,19	0,38	1,8

## Sensibilité (limite de détection analytique)

0,095 nmol/l ou 0,03 ng/ml

La limite de détection correspond au taux le plus faible de progesterone mesurable qui puisse être différencié de zéro. Elle représente la concentration du standard le plus faible de la courbe de référence + 2s (calibrateur de référence, standard 1 + 2s, précision intra-série n = 21).

## Sensibilité fonctionnelle

0,48 nmol/l ou 0,15 ng/ml

La sensibilité fonctionnelle est définie comme étant la concentration de progesterone la plus basse donnant une précision inter-série ≤ 20%.

## Spécificité analytique

L'anticorps du coffret ne présente pas de réactions croisées avec les substances suivantes :

11-Desoxycortisol	0,392	Androstendiol	0,002
11-Desoxycorticostérone	0,296	Androstendione	0,136
5-β-dihydroprogesterone	20,7	Corticostérone	0,687
5-α-dihydrotestostérone	0,040	Cortisol	0,005
17α-hydroxyprégnénolone	0,018	Danazol	0,002
17α-hydroxyprogesterone	1,30	S-DHEA	0,009
20α-hydroxy-4-prégnène-3-one	0,016	Estradiol	0,009
Médroxyprogesterone	0,812	Ethistérone	0,002
6α-méthyl-17α-hydroxy-acétate de progesterone	0,257	Diacétate d'éthinoldiol**	
6α-méthylprednisolone* *		Norethindrone	0,010
4-prégnène-11β-17α-diol-3,20-dione	0,338	Acétate de norethindrone**	
5β-prégnane-3α-ol-20-one	0,211	D-(-)-Norgestrel	0,008
5α-prégnène-3β-ol-20-one	0,858	Testostérone	0,020

\*\* non détectable

## Comparaison de méthodes

Une comparaison de la méthode de dosage des tests Progesterone II Elecsys (y) et Progesterone Elecsys (x), effectuée sur des sérums de patients hospitalisés, a permis d'établir les corrélations suivantes (ng/ml) :

Nombre d'échantillons analysés : 88

Passing/Bablok<sup>7-9</sup> Régression linéaire

y = 0,29 + 0,91x y = 0,50 + 0,90x

r = 0,998 r = 0,998

s(md68) = 0,43 Sy.x = 0,45

Les concentrations en progesterone des échantillons étaient situées entre env. 0,6 et 140 nmol/l ou 0,2 et 44 ng/ml.

## Bibliographie

- 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. *Surj. Gynecol Obstet.* 1987;165:9–12.
- Johnson MR, Carter G, Grint C, Lightman SL. Relationship between ovarian steroids, gonadotropin and relating during the menstrual cycle. *Acta Endocrinol.* 1993;129:121–125.
- 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.
- Juhl UM, Rippegather G, Weller J, Zawta B. Important Facts on Reproduction Medicine/Fertility Diagnosis, Questions and Answers, 1994. Boehringer Mannheim, Réf. 1322958.
- Documentation de Roche.
- Thienpont LM, Verhseghe PG, Van Brussel KA, De Leenheer AP. Efforts by Industry Toward Standardization of Serum Estradiol-17-β Measurements. *Clin Chem* 1998;44(3):671–674.
- Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983;21:709–720.
- Passing H, Bablok W. Comparison of Several Regression Procedures for Method Comparison Studies and Determination of Sample Sizes. *J Clin Chem Clin Biochem* 1984;22:431–445.
- Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:783–790.
- Greiling H, Gressner AM. *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie.* 3<sup>e</sup> édition, Stuttgart; New York: Schattauer 1995:1323.

\* Pour de plus amples informations, se référer au manuel d'utilisation des analyseurs MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 1010 et Elecsys 2010, au dossier Information-produit Progesterone II Elecsys et aux notices d'utilisation des réactifs auxiliaires, Progesterone II CalSet et PreciControl Universal.

☒ = Modifications importantes. Les modifications concernant les données contenues dans le code barres doivent être entrées manuellement.

© 2001 Roche Diagnostics

Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim



2001-05

