



hCG+ β -IRMA

KIP0981 - KIP0984

Distributed By:



Immuno-Biological Laboratories, Inc. (IBL-America)
8201 Central Ave. NE, Suite P
Minneapolis, Minnesota 55432, USA
Phone: (888) 523-1246
Fax.: (763) 780-2988
Email: info@ibl-america.com
Web: www.ibl-america.com

Read entire protocol before use.

hCG+ β IRMA

I. INTENDED USE

Immunoradiometric assay for the in vitro quantitative measurement of human chorionic gonadotropin in serum and plasma.

This kit is not intended to be used for the risk evaluation of trisomy 21.

II. GENERAL INFORMATION

- A. **Proprietary name :** DIAsource hCG+ β IRMA kit
- B. **Catalog number :** KIP0981 : 96 tests
KIP0984 : 4 x 96 tests
- C. **Manufactured by :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

For technical assistance or ordering information contact :
Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.90


III. CLINICAL BACKGROUND

- A. **Biological activities**
hCG is a glycoprotein synthesised by the syncytiotrophoblast of the placenta throughout pregnancy. hCG-molecular weight 37.9 kDa - comprises two subunits. The hCG α subunit -molecular weight 14.9 Kda - is chemically similar to the α subunits of FSH, LH and TSH hormones. The hCG β subunit - molecular weight 23.0 kDa - has a structure similar to that of the LH β subunit, differing by only a few epitopes. hCG has biological characteristics similar to LH. During pregnancy, hCG stimulates the remaining corpus luteum and the placental tissue to secrete the various steroid hormones. In addition to its stimulating action on the luteal and placental tissue, hCG, by crossing the placenta, is essential to differentiate the genital tract of the fetus, which occurs around the 7th week of pregnancy.
- B. **Clinical application of hCG+ β - IRMA**
- **Diagnostic and monitoring test in pregnancy**
hCG and its free subunits α and β appear in the serum and urine of pregnant women about 9 days following ovulation. The hCG level then increases rapidly to reach a peak between the 8th and the 12th week.
 - **Tumour marker test in trophoblastic tumours**
Hydatiform moles and choriocarcinomas may secrete large amounts of native hCG and its two free subunits α and β into the peripheral blood circulation.
 - **Tumour marker test in non-trophoblastic cancers**
10 to 15 % of the breast, lung, and digestive tract cancers release hCG and/or either of its two constitutive subunits α and β .

IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

The DIAsource hCG+β - IRMA is an immunoradiometric assay based on coated-tube separation in which several monoclonal antibodies directed against distinct epitopes of hCG have been used. Mabs 1 - the capture antibodies are attached to the lower and inner surface of the plastic tube. Calibrators or samples added to the tubes will at first show low affinity for Mabs 1. Addition of Mabs 2, the signal antibody labelled with ¹²⁵I, will complete the system and trigger the immunological reaction. After washing, the remaining radioactivity bound to the tube reflects the antigen concentration.

V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	Quantity 96 tests	Quantity 4x96 tests	Colour Code	Reconstitution			
 Tubes coated with anti hCG+β (monoclonal antibodies)	2 x 48	8 x 48	grey	Ready for use			
<table border="1" data-bbox="108 667 242 712"> <tr> <td>Ab</td> <td>¹²⁵I</td> </tr> </table> Anti- hCG+β - ¹²⁵ I (monoclonal antibodies) in TRIS Buffer with bovine serum albumin, sodium azide (< 0.1 %) and inert red dye	Ab	¹²⁵ I	1 vial 5.5 ml 450 kBq	4 vials 5.5 ml 4 x 450 kBq	red	Ready for use	
Ab	¹²⁵ I						
<table border="1" data-bbox="108 869 242 913"> <tr> <td>CAL</td> <td>N</td> </tr> </table> Calibrators 1-6 in bovine serum and thymol (see exact value on vial labels)	CAL	N	6 vials lyophil.	2 x 6 vials lyophil.	yellow	Add 0.5 ml distilled water	
CAL	N						
<table border="1" data-bbox="108 1003 242 1048"> <tr> <td>CAL</td> <td>0</td> </tr> </table> Calibrator 0 in bovine serum and azide (0,5 %)	CAL	0	3 vials 10 ml	8 vials 10 ml	yellow	Ready for use	
CAL	0						
<table border="1" data-bbox="76 1126 290 1171"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Wash solution (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 vial 10 ml	3 vials 10 ml	brown	Dilute 70x with distilled water (use a magnetic stirrer).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1" data-bbox="76 1238 290 1283"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>N</td> </tr> </table> Controls 1 and 2 in human serum with thymol	CONTROL	N	2 vials lyophil.	2 x 2 vials lyophil.	silver	Add 0.5 ml distilled water	
CONTROL	N						

Note: Also use the content of the zero calibrator for dilutions of samples. 1 mIU of the calibrator preparation is equivalent to 1 mIU of ⁴hIS 75/589

VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

The following material is required but not provided in the kit :

- Distilled water
- Pipettes for delivery of: 50 µl and 500 µl (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
- 5 ml automatic syringe (Cornwall type) for washing
- Aspiration system (optional)
- Vortex mixer
- Magnetic stirrer
- Tube shaker (400 rpm)
- Any gamma counter capable of measuring ¹²⁵I may be used (minimal yield 70%).

VII. REAGENT PREPARATION

- Calibrators 1-6:** Reconstitute the calibrators with 0.5 ml distilled water.
- Controls :** Reconstitute the controls with 0.5 ml distilled water.
- Wash solution :** Prepare an adequate volume of Working Wash Solution by adding 69 volumes of distilled water to 1 volume of wash solution (70x). Use a magnetic stirrer to homogenize. Discard unused Working Wash Solution at the end of the day.

VIII. STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS

- Before opening or reconstitution, all kit components are stable until the expiry date, indicated on the label, if kept at 2 to 8°C.
- After reconstitution, calibrators and controls are stable for 7 days at 2-8°C. For longer storage periods, aliquots should be made and kept at -20°C for 3 months. Avoid subsequent freeze-thaw cycles.

- Freshly prepared Working Wash solution should be used on the same day.
- After its first use, tracer is stable until expiry date, if kept in the original well-closed vial at 2 to 8°C.
- Alterations in physical appearance of kit reagents may indicate instability or deterioration.

IX. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- Serum or plasma samples must be kept at 2-8°C.
- If the test is not run within 24h., storage at -20°C is recommended.
- Avoid subsequent freeze-thaw cycles.
- Serum and heparinized or EDTA plasma provide similar results.
 $y(\text{serum}) = 1.03x(\text{HEP. plasma}) + 0.07$ $r = 0.99$ $n = 30$
 $y(\text{serum}) = 1.00x(\text{EDTA plasma}) - 0.47$ $r = 0.99$ $n = 30$

X. PROCEDURE

A. Handling notes

- Do not use the kit or components beyond expiration date.
- Do not mix materials from different kit lots.
- Bring all the reagents to room temperature prior to use.
- Thoroughly mix all reagents and samples by gentle agitation or swirling.
- In order to avoid cross-contamination, use a clean disposable pipette tip for the addition of each reagent and sample.
- High precision pipettes or automated pipetting equipment will improve the precision.
- Respect the incubation times.
- Prepare a calibrator curve for each run, do not use data from previous runs.

B. Procedure

- Label coated tubes in duplicate for each calibrator, control, specimen. For the determination of the total activity label two plain plastic tubes.
- Briefly vortex calibrators, controls, specimens and dispense 50 µl of each into the respective tubes.
- Dispense 50 µl of anti-hCG+β-¹²⁵I tracer to all tubes, including the uncoated tubes for total counts.
- Shake the rack containing the tubes gently by hand to liberate any trapped bubbles.
- Incubate for 30 min. at room temperature on a tube shaker (400 rpm) . **Respect carefully the incubation time.**
- Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts). Be sure that the plastic tip of the aspirator reaches the bottom of the coated-tube in order to remove all the liquid.
- Wash tubes with 2 ml Working Wash solution (except total counts). Avoid foaming during the addition of the Working Wash solution.
- Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts).
- Wash tubes again with 2 ml Wash solution (except total counts) and aspirate (or decant).
- After the last washing, let the tubes stand upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
- Count tubes in a gamma counter for 60 seconds.

XI. CALCULATION OF RESULTS

- Calculate the mean of duplicate determinations.
- On semi logarithmic or linear graph paper plot the c.p.m. (ordinate) for each calibrator against the corresponding concentration of hCG+β (abscissa) and draw a calibration curve through the calibrator points, reject the obvious outliers.
- Read the concentration for each control and sample by interpolation on the calibration curve.
- Computer assisted data reduction will simplify these calculations. If automatic result processing is used, a 4-parameter logistic function curve fitting is recommended.

XII. TYPICAL DATA

The following data are for illustration only and should never be used in place of the real time calibrator curve.

hCG+β IRMA		cpm	B/T (%)
Total count		293692	
Calibrator	0.0 mIU/ml	194	0.07
	5.5 mIU/ml	1127	0.38
	16.6 mIU/ml	2496	0.85
	54.0 mIU/ml	8095	2.76
	153.0 mIU/ml	25435	8.66
	307.0 mIU/ml	49646	16.90
	585.0 mIU/ml	93037	31.68

XIII. PERFORMANCE AND LIMITATIONS

A. Detection Limit

Twenty zero standards were assayed along with a set of other calibrators. The sensitivity, defined as the apparent concentration two standard deviations above the average counts at zero binding, was 1.6 mIU/ml.

B. Specificity

Cross-reactive hormones were added to a low hCG+β value serum and to a high value calibrator (150 mIU/ml). The apparent hCG+β response was measured.

Added hormones		CAL 1 Observed hCG values	CAL 2 Observed hCG values
FSH	-	9.8 mIU/ml	284 mIU/ml
LH	250 mIU/ml	11.3 mIU/ml	292 mIU/ml
TSH	250 μIU/ml	10.9 mIU/ml	262 mIU/ml
αhCG	34000 fmol/ml	10.3 mIU/ml	290 mIU/ml
βhCG	1000 fmol/ml	11.0 mIU/ml	252 mIU/ml
		361.0 mIU/ml	699 mIU/ml

This demonstrates that the hCG+β-IRMA does not cross react with FSH, LH, TSH, αhCG and presents a 100 % cross-reaction with the free β-chain of hCG.

Note : Using the following molecular weights 37.9 kDa (hCG), 23.0 kDa (βhCG) and 14.9 kDa (αhCG), the molar equivalents are :

- hCG : 1000 fmol = 37.9 ng - 325 mIU 1st IRP 75/537
- βhCG : 1000 fmol = 23.0 ng
- αhCG : 1000 fmol = 14.9 ng

C. Precision

INTRA ASSAY

INTER ASSAY

Serum	N	<X> ± S.D. (mIU/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± S.D. (mIU/ml)	CV (%)
A	20	67.3 ± 1.2	1.8	C	10	35.2 ± 2.2	6.2
B	20	245.9 ± 3.0	1.2	D	10	149.6 ± 12.6	8.4

D. Accuracy

RECOVERY TEST

Sample	Added hCG (mIU/ml)	Recovered (mIU/ml)	Recovery (%)
Serum 1	50.0	52.1	104
	100.0	101.7	104
	200.0	209.0	102
	400.0	417.1	104

DILUTION TEST

Sample	Dilution	Theoretical Concent. (mIU/ml)	Measured Concent. (mIU/ml)
Serum 1	1/1	563.6	563.6
	1/2	281.8	260.2
	1/4	140.9	126.4
	1/8	70.5	62.6
	1/16	35.2	34.1
	1/32	17.6	18.1
	1/64	8.8	8.7
	1/128	4.4	4.8

Samples were diluted with zero calibrator.

E. Time delay between last calibrator and sample dispensing

As shown hereafter, assay results remain accurate even when a sample is dispensed 30 minutes after the calibrator has been added to the coated tubes.

TIME DELAY

	0'	10'	20'	30'
Serum 1 (mIU/ml)	31.2	31.1	30.9	31.4
Serum 2 (mIU/ml)	144.1	142.4	140.5	143.5

F. Hook effect

A Hook effect can be observed above 150000 mIU/ml. Samples from pregnant women can yield such high concentrations. Therefore, it is advisable, in cases where an accurate quantitative result of the hCG concentration should be obtained (e.g. follow up of pregnancies), to test 3 dilutions as indicated in the scheme below.

- A: undiluted
- B: 17x diluted (25 μl of A + 400 μl zero calibrator)
- C: 289x diluted (25 μl of B + 400 μl zero calibrator)

Screening for pregnancies should be tested undiluted.

XIV. LIMITATIONS

- Specimens from patients who have received preparations of mouse monoclonal antibodies for diagnosis or therapy may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). Such specimens may show either falsely elevated or depressed values when tested with assay kits which employ mouse monoclonal antibodies.
- Heterophilic antibodies in human serum can react with reagent immunoglobulins, interfering with in vitro immunoassays. Patients routinely exposed to animals or animal serum products can be prone to this interference and anomalous values may be observed in case of the presence of heterophilic antibodies. Carefully evaluate the results of patients suspected of having these antibodies. If results are not consistent with other clinical observations, additional information should be required before diagnosis.

XV. INTERNAL QUALITY CONTROL

- If the results obtained for Control 1 and/or Control 2 are not within the range specified on the vial label, the results cannot be used unless a satisfactory explanation for the discrepancy has been given.
- If desirable, each laboratory can make its own pools of control samples, which should be kept frozen in aliquots. Do not freeze-thaw more than twice.
- Acceptance criteria for the difference between the duplicate results of the samples should rely on Good Laboratory Practises

XVI. REFERENCE INTERVALS

The values provided below are given only for guidance; each laboratory should establish its own normal range of values.

Pregnancy cut-off:

The cut-off for pregnancy determination, defined as the apparent concentration three standard deviations above the average counts of 97 samples from non-pregnant women, was 4.6 mIU/ml.

It is recommended to retest samples between the cut-off and 10 mIU/ml.

XVII. PRECAUTIONS AND WARNINGS

Safety

For in vitro diagnostic use only.

This kit contains ¹²⁵I (half-life: 60 days), emitting ionizing X (28 keV) and γ (35.5 keV) radiations.

This radioactive product can be transferred to and used only by authorized persons; purchase, storage, use and exchange of radioactive products are subject to the legislation of the end user's country. In no case the product must be administered to humans or animals.

All radioactive handling should be executed in a designated area, away from regular passage. A log book for receipt and storage of radioactive materials must be kept in the lab. Laboratory equipment and glassware, which could be contaminated with radioactive substances should be segregated to prevent cross contamination of different radioisotopes.

Any radioactive spills must be cleaned immediately in accordance with the radiosafety procedures. The radioactive waste must be disposed of following the local regulations and guidelines of the authorities holding jurisdiction over the laboratory. Adherence to the basic rules of radiation safety provides adequate protection.

The human blood components included in this kit have been tested by European approved and/or FDA approved methods and found negative for HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 and 2. No known method can offer complete assurance that human blood derivatives will not transmit hepatitis, AIDS or other infections. Therefore, handling of reagents, serum or plasma specimens should be in accordance with local safety procedures.

All animal products and derivatives have been collected from healthy animals. Bovine components originate from countries where BSE has not been reported. Nevertheless, components containing animal substances should be treated as potentially infectious.

Avoid any skin contact with reagents (sodium azide as preservative). Azide in this kit may react with lead and copper in the plumbing and in this way form highly explosive metal azides. During the washing step, flush the drain with a large amount of water to prevent azide build-up.

Do not smoke, drink, eat or apply cosmetics in the working area. Do not pipette by mouth. Use protective clothing and disposable gloves.

XVIII. BIBLIOGRAPHY

1. BRAUNSTEIN G.D., RASOR J., ADLER D., DANZER H., WADE H.E., (1976)
Serum chorionic gonadotropin levels throughout normal pregnancy.
Am. J. Obstet. Gynecol., 126:678.
2. CHEN F., SETSUKO G., YOSHIHITO F., YUTAKA T., (1987)
Radioimmunoassay of the serum free β -subunit of human chorionic gonadotropin in trophoblastic disease.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:313.
3. DAWOOD M.Y., SASCENA B.B., LANDESMAN R., (1977)
Human chorionic gonadotropin and its subunit in hydatidiform mole and choriocarcinoma.
Obstet. Gynecol., 50:172.
4. HAY D.L., (1982)
Chorionic gonadotropin.
Clin. Biochem., 3:35.
5. GASPARD V.J., REUTER A.M., DEVILLE J.L., VRINDTS-GEVAERT Y., BAGSHAW K.D., FRANCHIMONT P., (1980)
Serum concentration of human chorionic gonadotropin and its alpha and beta subunit II Trophoblastic tumours.
Clin. Endocrinol. (Oxf.), 13:219.
6. PIERCE J.G., PARSONS T.F., (1981)
Glycoprotein hormones : structure and function.
Annu. Rev. Biochem., 50:465.

7. MANCINI G. et al., (1992)
hCG, AFP and V E₃ pattern in the 14-20th weeks of Down's syndrome pregnancies.
Prenatal Diagnost., 12(7):619-24.
8. WHITEHEAD N. et al., (1993)
Elevated material serum human chorionic gonadotropin increases the chance of adverse pregnancy outcome.
Am. J. Obstet. Gynecol., 169(5):1359-60.

XIX. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	TOTAL COUNTS ml	CALIBRATORS ml	SAMPLE(S) ml
Calibrators (0-5)	-	0.05	-
Samples	-	-	0.05
Tracer	0.05	0.05	0.05
Incubation	30 minutes at room temperature with shaking at 400 rpm		
Separation	-	aspirate (or decant)	
Washing solution	-	2.0	
Separation	-	aspirate (or decant)	
Washing solution	-	2.0	
Separation	-	aspirate (or decant)	
Counting	Count tubes for 60 seconds		

DIAsource Catalogue Nr : KIP0981 - KIP0984	P.I. Number : 1700467/en	Date of issue : 110218/1
---	-----------------------------	-----------------------------

Revision date : 2011-02-18

Lire entièrement le protocole avant utilisation.

hCG+ β -IRMA

I. BUT DU DOSAGE

Trousse de dosage radio-immunologique pour la mesure quantitative *in vitro* de la gonadotropine chorionique (hCG) dans le sérum et le plasma humain.

Cette trousse n'est pas destinée à être utilisée pour évaluer le risque de trisomie 21.

II. INFORMATIONS GENERALES

- A. **Nom du produit :** DIAsource hCG+ β -IRMA kit
- B. **Numéro de catalogue :** KIP0981 : 96 tests
KIP0984 : 4 x 96 tests
- C. **Fabriqué par :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

Pour une assistance technique ou une information sur une commande :

Tel : +32 (0)10 84.99.11

Fax : +32 (0)10 84.99.90

III. CONTEXTE CLINIQUE

A. Activités biologiques

La hCG est une glycoprotéine synthétisée par le syncytiotrophoblaste du placenta lors de la grossesse. Le poids moléculaire de la hCG est 37.9 kDa et comprend deux sous-unités. La sous-unité hCG α – poids moléculaire 14.9 kDa – est chimiquement similaire aux sous-unités α des hormones FSH, LH et TSH. La sous-unité hCG β – poids moléculaire 23.0 kDa – a une structure similaire à celle de la sous-unité LH β , qui n'est différente que par quelques épitopes. La hCG a des caractéristiques similaires à celles de la LH. Lors de la grossesse, la hCG stimule le corps jaune restant et le tissu placentaire à sécréter les différentes hormones stéroïdes. En plus de son action stimulante sur le tissu lutéal et placentaire, la hCG, en traversant le placenta, est essentielle pour différencier le tractus génital du fœtus, qui apparaît vers la 7^{ème} semaine de la grossesse.

B. Application clinique

· **Test d'évaluation et test diagnostique pour la grossesse**

La hCG et ses sous-unités libres α et β apparaissent dans le sérum et l'urine de femmes enceintes après environ 9 jours après l'ovulation. Puis, le taux en hCG augmente rapidement pour atteindre un sommet entre la 8^{ème} et la 12^{ème} semaine.

· **Test de marqueur de tumeur pour des tumeurs trophoblastiques**

Des môles hydatiformes et des choriocarcinomes peuvent sécréter de grandes quantités de hCG native et de ses deux sous-unités libres α et β dans la circulation sanguine périphérique.













· **Test de marqueur de tumeur pour des cancers non-trophoblastiques**

10 à 15 % des cancers du sein, du poumon et de l'intestin sécrètent de la hCG et/ou ses deux sous-unités constitutives α et β .

IV. PRINCIPES DU DOSAGE

La trousse DIAsource hCG+β-IRMA est une trousse de dosage radio-immunologique basée sur la séparation en tube recouvert d'anticorps dans lequel différents anticorps monoclonaux, dirigés contre des épitopes distinctes de la hCG ont été utilisés. Mabs1, les anticorps de capture, sont attachés sur la surface basse et interne du tube plastique. Les calibrateurs ou les échantillons ajoutés dans les tubes présenteront dans un premier temps une faible affinité pour Mabs1. L'addition de Mab2, l'anticorps de détection marqué avec ^{125}I , complètera le système et déclenchera la réaction immunologique. Suite au lavage, la radioactivité restante liée au tube reflètera la concentration de l'antigène.

V. REACTIFS FOURNIS

Reactifs	96 tests Kit	96 tests Kit	Code Couleur	Reconstitution
 Tubes recouverts avec l'anti hCG+β (anticorps monoclonal)	2 x 48	8 x 48	Gris	Prêt à l'emploi
  TRACEUR: anti - hCG+β marquée à ^{125}I Iodine (anticorps monoclonal) dans un tampon TRIS avec de l'albumine bovine, de l'azide de sodium (<0,1%) et un colorant rouge inactif	1 flacon 5,5 ml 450 kBq	4 flacons 5,5 ml 4x450 kBq	Rouge	Prêt à l'emploi
  Calibrateur zéro dans du sérum bovin avec de l'azide (0,5 %)	3 flacons 10 ml	8 flacons 10 ml	Jaune	Prêt à l'emploi
  Calibrateur N = 1 à 6 (cfr. Valeurs exactes sur chaque flacon) dans du sérum bovin avec du thymol	6 flacons lyophilisés	2x6 flacons lyophilisés	Jaune	Ajouter 0,5 ml d'eau distillée
   Solution de Lavage (TRIS - HCl)	1 flacon 10 ml	3 flacons 10 ml	Brun	Diluer 70 x avec de l'eau distillée (utiliser un agitateur magnétique).
  Contrôles - N = 1 ou 2 dans du sérum humain avec du thymol	2 flacons lyophilisés	2x2 flacons lyophilisés	Gris	Ajouter 0,5 ml d'eau distillée

Note:

- Utiliser le calibrateur zéro pour la dilution des échantillons.
- 1 mIU de la préparation du calibrateur est équivalent à 1 mIU de ^{125}I 75/589

VI. MATERIELS NON FOURNIS

Le matériel mentionné ci-dessous est requis mais non fourni avec la trousse:

- Eau distillée
- Pipettes pour distribuer: 50 µl et 500 µl (l'utilisation de pipettes précises et de pointes en plastique est recommandée)
- Agitateur vortex
- Agitateur magnétique
- Agitateur de tubes (400 rpm)
- Seringue automatique de 5 ml (type Cornwall) pour les lavages
- Système d'aspiration (optionnel)
- Tout compteur gamma capable de mesurer ^{125}I peut être utilisé (rendement minimum 70%).

VII. PREPARATION DES REACTIFS

- Calibrateurs 1-6:** Reconstituer les calibrateurs avec 0,5 ml d'eau distillée.
- Contrôles :** Reconstituer les contrôles avec 0,5 ml d'eau distillée.
- Solution de Lavage :** Préparer un volume adéquat de Solution de Lavage en ajoutant 69 volumes d'eau distillée à 1 volume de Solution de Lavage (70x). Utiliser un agitateur magnétique pour homogénéiser. Eliminer la Solution de Lavage non utilisée à la fin de la journée.

VIII. STOCKAGE ET DATE D'EXPIRATION DES REACTIFS

- Avant l'ouverture ou la reconstitution, tous les composants de la trousse sont stables jusqu'à la date d'expiration, indiquée sur l'étiquette, si la trousse est conservée entre 2 et 8°C.
- Après reconstitution, les calibrateurs et les contrôles sont stables pendant 7 jours entre 2 et 8°C. Pour de plus longues périodes de stockage, des aliquots devront être réalisés et ceux-ci seront gardés à -20°C pendant 3 mois au maximum. Eviter des cycles de congélation et décongélation successifs.
- La Solution de Lavage préparée doit être utilisée le jour même.
- Après la première utilisation, le traceur est stable jusqu'à la date d'expiration, si celui-ci est conservé entre 2 et 8°C dans le flacon d'origine correctement fermé.
- Des altérations dans l'apparence physique des réactifs de la trousse peuvent indiquer une instabilité ou une détérioration.

IX. PREPARATION ET STABILITE DE L'ECHANTILLON

- Les échantillons de sérum ou de plasma doivent être gardés entre 2 et 8°C.
 - Si le test n'est pas réalisé dans les 24 heures, un stockage à -20°C est recommandé.
 - Eviter des cycles de congélation et décongélation successifs.
 - Le sérum, le plasma hépariné ou le plasma traité avec l'EDTA donne des résultats similaires
- $$y(\text{Sérum}) = 1,03x (\text{HEP. Plasma}) + 0,07 \quad r = 0,99 \quad n = 30$$
- $$y(\text{Sérum}) = 1,00x (\text{EDTA Plasma}) - 0,47 \quad r = 0,99 \quad n = 30$$

X. MODE OPERATOIRE

A. Notes de manipulation

Ne pas utiliser la trousse ou ses composants après avoir dépassé la date d'expiration. Ne pas mélanger du matériel provenant de trousses de lots différents. Mettre tous les réactifs à température ambiante avant utilisation. Mélangez tous les réactifs et les échantillons sous agitation douce. Pour éviter toute contamination croisée, utiliser une nouvelle pointe de pipette pour l'addition de chaque réactif et échantillon. Des pipettes de haute précision ou un équipement de pipetage automatique permettent d'augmenter la précision. Respecter les temps d'incubation. Préparer une courbe d'étalonnage pour chaque nouvelle série d'expériences, ne pas utiliser les données d'expériences précédentes.

B. Mode opératoire

- Identifier les tubes recouverts fournis dans la trousse, en double pour chaque calibrateur, échantillon, contrôle. Pour la détermination de l'activité totale, identifier 2 tubes non recouverts d'anticorps.
- Agiter au vortex brièvement les calibrateurs, les contrôles et les échantillons. Puis distribuer 50 µl de chacun d'eux dans leurs tubes respectifs.
- Distribuer 50 µl de traceur dans chaque tube.
- Agiter légèrement le portoir de tube manuellement pour libérer toute bulle d'air emprisonnée.
- Incuber pendant 30 minutes à température ambiante sous agitation continue (400 rpm). **Respecter strictement le délai d'incubation.**
- Aspirer (ou décanter) le contenu de chaque tube (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale). Assurez-vous que la pointe utilisée pour aspirer le liquide des tubes atteint le fond de chacun d'eux pour éliminer toute trace de liquide.
- Laver les tubes avec 2 ml de Solution de Lavage (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale) et aspirer. Eviter la formation de mousse pendant l'addition de la Solution de Lavage.
- Aspirer (ou décanter) le contenu de chaque tube (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale).
- Laver les tubes à nouveau avec 2 ml de Solution de Lavage (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale) et aspirer (ou décanter).
- Après le dernier lavage, laisser les tubes droits pendant 2 minutes et aspirer (ou décanter) le reste de liquide.
- Placer les tubes dans un compteur gamma pendant 60 secondes pour quantifier la radioactivité.

XI. CALCUL DES RESULTATS

- Calculer la moyenne de chaque détermination réalisée en double.
- Dessiner sur un graphique linéaire ou semi-logarithmique les cpm (ordonnées) pour chaque calibrateur contre la concentration correspondante en hCG+β (abscisses) et dessiner une courbe de calibration à l'aide des points de calibration, écarter les valeurs aberrantes.

3. Lire la concentration pour chaque contrôle et échantillon par interpolation sur la courbe de calibration.
4. L'analyse informatique des données simplifiera les calculs. Si un système d'analyse de traitement informatique des données est utilisé, il est recommandé d'utiliser la fonction « 4 paramètres » du lissage de courbes.

XII. DONNEES TYPES

Les données représentées ci-dessous sont fournies pour information et ne peuvent jamais être utilisées à la place d'une courbe d'étalonnage.

hCG+β IRMA		cpm	B/T (%)
Activité totale		293692	
Calibrateur	0,0 mIU/ml	194	0,07
	5,5 mIU/ml	1127	0,38
	16,6 mIU/ml	2496	0,85
	54,0 mIU/ml	8095	2,76
	153,0 mIU/ml	25435	8,66
	307,0 mIU/ml	49646	16,90
	585,0 mIU/ml	93037	31,68

XIII. PERFORMANCE ET LIMITES

A. Sensibilité

Vingt calibrateurs zéro ont été testés en parallèle avec un assortiment d'autres calibrateurs. La limite de détection, définie comme la concentration apparente située 2 déviations standards au-dessus de la moyenne déterminée à la fixation zéro, était de 1,6 mIU/ml.

B. Spécificité

Des hormones cross-réactives ont été ajoutées à un sérum à valeur hCG+β basse et à un calibrateur à valeur élevée (150 mIU/ml). La réponse hCG+β a été mesurée.

Hormones ajoutées		CAL 1 Valeurs hCG observées	CAL 2 Valeurs hCG observées
-	-	9,8 mIU/ml	284 mIU/ml
FSH	250 mIU/ml	11,3 mIU/ml	292 mIU/ml
LH	250 mIU/ml	10,9 mIU/ml	262 mIU/ml
TSH	250 μIU/ml	10,3 mIU/ml	290 mIU/ml
ahCG	34000 fmol/ml	11,0 mIU/ml	252 mIU/ml
βhCG	1000 fmol/ml	361,0 mIU/ml	699 mIU/ml

Ceci démontre que la hCG+β-IRMA ne présente pas de réaction croisée avec FSH, LH, TSH, ahCG et présente une réaction croisée de 100 % avec la chaîne β libre de la hCG.

Note : En utilisant les poids moléculaires suivants 37,9 kDa (hCG), 23,0 kDa (βhCG) et 14,9 kDa (ahCG), les équivalents molaires sont :

- hCG : 1000 fmol = 37,9 ng - 325 mIU 1st IRP 75/537
- βhCG : 1000 fmol = 23,0 ng
- ahCG : 1000 fmol = 14,9 ng

C. Précision

INTRA-ESSAI				INTER-ESSAI			
Sérum	N	<X> ± SD (mIU/ml)	CV (%)	Sérum	N	<X> ± SD (mIU/ml)	CV (%)
A	20	67,3 ± 1,2	1,8	C	10	35,2 ± 2,2	6,2
B	20	245,9 ± 3,0	1,2	D	10	149,6 ± 12,6	8,4

SD : Déviation Standard; CV: Coefficient de variation

D. Exactitude

TEST DE RECUPERATION

Echantillon	hCG+β ajoutée (mIU/ml)	hCG+β récupérée (mIU/ml)	Récupération (%)
Sérum 1	50,0	52,1	104
	100,0	101,7	104
	200,0	209,0	102
	400,0	417,1	104

TEST DE DILUTION

Echantillon	Dilution	Concent. théorique (mIU/ml)	Concent. Mesurée (mIU/ml)
Sérum 1	1/1	563,6	563,6
	1/2	281,8	260,2
	1/4	140,9	126,4
	1/8	70,5	62,6
	1/16	35,2	34,1
	1/32	17,6	18,1
	1/64	8,8	8,7
	1/128	4,4	4,8

L' échantillon a été dilué avec le calibrateur zéro.

E. Délai entre la distribution du dernier calibrateur et celle de l'échantillon

Comme montré ci-dessous, les résultats d'un essai restent précis même quand un échantillon est distribué 30 minutes après que le calibrateur ait été ajouté aux tubes avec l'anticorps.

DELAI

	0'	10'	20'	30'
Serum 1 (mIU/ml)	31,2	31,1	30,9	31,4
Serum 2 (mIU/ml)	144,1	142,4	140,5	143,5

F. Effet crochet

Un effet crochet peut être observé au-dessus de 150000 mIU/ml. Les échantillons de femmes enceintes peuvent comprendre ces concentrations. Voilà pourquoi il est recommandé, dans les cas où un résultat quantitatif précis de la concentration en hCG doit être obtenu (p.e. observation de grossesses), de tester 3 dilutions comme indiqué dans le schéma ci-dessous.

- A: Non dilué
- B: Dilué 17x (25 μl de A + 400 μl du calibrateur zéro)
- C: Dilué 289x (25 μl de B + 400 μl du calibrateur zéro)

Les tests de grossesse doivent être testés non dilués.

XIV. LIMITATIONS

- Les échantillons de patients ayant reçu des préparations d'anticorps monoclonaux de souris pour un diagnostic ou comme traitement peuvent contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA). De tels échantillons peuvent montrer des valeurs soit faussement élevées soit faussement basses lorsqu'ils sont analysés avec des trousse d'analyses utilisant des anticorps monoclonaux de souris.
- Des anticorps hétérophiles dans le sérum humain peuvent réagir avec le réactif immunoglobulines, interférant ainsi avec les méthodes d'analyse immunologiques in vitro.

Les patients couramment en contact avec des animaux ou des produits de sérum animal peuvent être sujets à ces interférences. Des valeurs anormales peuvent être observées en cas de présence d'anticorps hétérophiles. Évaluer soigneusement les résultats des patients suspectés d'avoir ces anticorps.

Si les résultats ne sont pas cohérents avec les autres observations cliniques, des informations supplémentaires doivent être demandées avant de poser le diagnostic.

XV. CONTROLE DE QUALITE INTERNE

- Si les résultats obtenus pour le(s) contrôle(s) 1 et/ou 2 ne sont pas dans l'intervalle spécifié sur l'étiquette du flacon, les résultats ne peuvent pas être utilisés à moins que l'on ait donné une explication satisfaisante de la non-conformité.
- Chaque laboratoire est libre de faire ses propres stocks d'échantillons contrôles, lesquels doivent être congelés aliquotés.
- Les critères d'acceptation pour les écarts des valeurs in duplo des échantillons doivent être basés sur les pratiques de laboratoire courantes.

XVI. VALEURS ATTENDUES

Les valeurs sont données à titre d'information; chaque laboratoire doit établir ses propres écarts de valeurs.

Limite pour la grossesse:

La limite pour la détermination de la grossesse, définie comme la concentration apparente trois déviations standards au-dessus des comptages moyens de 96 échantillons de femmes non enceintes, était 4,6 mIU/ml.

Il est recommandé de retester les échantillons compris entre le cut-off et 10 mIU/ml.

XVII. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

Sécurité

Pour utilisation en diagnostic *in vitro* uniquement.

Cette trousse contient de I^{125} (demi-vie: 60 jours), une matière radioactive émettant des rayonnements ionisants X (28 keV) et γ (35.5 keV).

Ce produit radioactif peut uniquement être reçu, acheté, possédé ou utilisé par des personnes autorisées; l'achat, le stockage, l'utilisation et l'échange de produits radioactifs sont soumis à la législation du pays de l'utilisateur final. Ce produit ne peut en aucun cas être administré à l'homme ou aux animaux.

Toutes les manipulations radioactives doivent être exécutées dans un secteur désigné, éloigné de tout passage. Un journal de réception et de stockage des matières radioactives doit être tenu à jour dans le laboratoire. L'équipement de laboratoire et la verrerie, qui pourrait être contaminée avec des substances radioactives, doivent être isolés afin d'éviter la contamination croisée de plusieurs isotopes.

Toute contamination ou perte de substance radioactive doit être réglée conformément aux procédures de radio sécurité. Les déchets radioactifs doivent être placés de manière à respecter les réglementations en vigueur. L'adhésion aux règles de base de sécurité concernant les radiations procure une protection adéquate.

Les composants de sang humain inclus dans ce kit ont été évalués par des méthodes approuvées par l'Europe et/ou la FDA et trouvés négatifs pour HBsAg, l'anti-HCV, l'anti-HIV-1 et 2. Aucune méthode connue ne peut offrir l'assurance complète que des dérivés de sang humain ne transmettront pas d'hépatite, le sida ou toute autre infection. Donc, le traitement des réactifs, du sérum ou des échantillons de plasma devront être conformes aux procédures locales de sécurité. Tous les produits animaux et leurs dérivés ont été collectés d'animaux sains. Les composants bovins proviennent de pays où l'ESB n'a pas été détectée. Néanmoins, les composants contenant des substances animales devront être traités comme potentiellement infectieux.

L'azide de sodium est nocif s'il est inhalé, avalé ou en contact avec la peau (l'azide de sodium est utilisé comme agent conservateur). L'azide dans cette trousse pouvant réagir avec le plomb et le cuivre dans les canalisations et donner des composés explosifs, il est nécessaire de nettoyer abondamment à l'eau le matériel utilisé.

Ne pas fumer, ni boire, ni manger ni appliquer de produits cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des vêtements protecteurs et des gants à usage unique.

XVIII. BIBLIOGRAPHIE

1. BRAUNSTEIN G.D., RASOR J., ADLER D., DANZER H., WADE H.E., (1976)
Serum chorionic gonadotropin levels throughout normal pregnancy.
Am. J. Obstet. Gynecol., 126:678.
2. CHEN F., SETSUKO G., YOSHIHITO F., YUTAKA T., (1987)
Radioimmunoassay of the serum free β -subunit of human chorionic gonadotropin in trophoblastic disease.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:313.

3. DAWOOD M.Y., SASCENA B.B., LANDESMAN R., (1977)
Human chorionic gonadotropin and its subunit in hydatidiform mole and choriocarcinoma.
Obstet. Gynecol., 50:172.
4. HAY D.L., (1982)
Chorionic gonadotropin.
Clin. Biochem., 3:35.
5. GASPARD V.J., REUTER A.M., DEVILLE J.L., VRINDTS-GEVAERT Y., BAGSHAW K.D., FRANCHIMONT P., (1980)
Serum concentration of human chorionic gonadotropin and its alpha and beta subunit II Trophoblastic tumours.
Clin. Endocrinol. (Oxf.), 13:219.
6. PIERCE J.G., PARSONS T.F., (1981)
Glycoprotein hormones : structure and function.
Annu. Rev. Biochem., 50:465.
7. MANCINI G. et al., (1992)
hCG, AFP and V E₃ pattern in the 14-20th weeks of Down's syndrome pregnancies.
Prenatal Diagnost., 12(7):619-24.
8. WHITEHEAD N. et al., (1993)
Elevated material serum human chorionic gonadotropin increases the chance of adverse pregnancy outcome.
Am. J. Obstet. Gynecol., 169(5):1359-60.

XIX. RESUME DU PROTOCOLE

	ACTIVITE TOTALE (ml)	CALIBRATEURS (ml)	ECHANTILLON(S) CONTROLES (ml)
Calibrateurs (0-6)	-	0,05	-
Echantillons, Contrôles	-	-	0,05
Traceur	0,05	0,05	0,05
Incubation	30 minutes à température ambiante sous agitation continue (400 rpm)		
Séparation	-	-	Aspiration
Solution de Lavage	-	-	2,0
Séparation	-	-	Aspiration
Solution de Lavage	-	-	2,0
Séparation	-	-	Aspiration
Comptage	Temps de comptage des tubes: 60 secondes		

DIASource Catalogue Nr : KIP0981 – KIP0984	P.I. Number : 1700467/fr	Revision nr : 110218/1
---	-----------------------------	---------------------------

Date de revision : 2011-02-18



Vor Gebrauch des Kits lesen Sie bitte diese Packungsbeilage.

hCG+ β -IRMA

I. VERWENDUNGSZWECK

Ein Radio-Immunoassay für die quantitative *in vitro* Bestimmung von humanem Choriongonadotropin (hCG) in Serum und Plasma.

Dieser Kit ist nicht zur Evaluierung des Risikos auf Trisomie 21 bestimmt.

II. ALLGEMEINE INFORMATION

A. **Handelsbezeichnung :** DIAsource hCG+ β -IRMA Kit

B. **Katalognummer :** KIP0981 : 96 Tests
KIP0984: 4 x 96 Tests

C. **Hergestellt von:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgien.

Für technische Unterstützung oder Bestellungen wenden Sie sich bitte an:

Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.90

Für Deutschland : Kostenfreie Rufnummer : 0800 1 00 85 74 - Kostenfreie Faxnummer : 0800 1 00 85 75

E-mail Ordering : ordering@diasource.be

III. KLINISCHER HINTERGRUND

A. Biologische Aktivität

hCG ist ein Glykoprotein, das während der gesamten Schwangerschaft durch die Synzytiotrophoblasten der Plazenta gebildet wird. hCG - Molekulargewicht 37.9 kDa - umfasst zwei Untereinheiten. Die hCG α - Untereinheit - Molekulargewicht 14.9 kDa - ist chemisch den α -Untereinheiten der Hormone FSH, LH und TSH ähnlich. Die hCG β -Untereinheit - Molekulargewicht 23.0 kDa - hat eine Struktur, die jener der LH β - Untereinheit ähnelt und sich nur in einigen Epitopen unterscheidet. hCG hat biologische Eigenschaften, die jenen von LH ähneln. Während der Schwangerschaft stimuliert hCG das verbleibende Corpus luteum und das Plazentagewebe dazu, die verschiedenen Steroidhormone zu sezernieren. Neben der Stimulierung des Luteal- und Plazentagewebes ist hCG, das die Plazenta durchquert, entscheidend zur Differenzierung des Tractus genitalis des Fötus, die um die 7. Schwangerschaftswoche stattfindet.

B. Klinische Anwendung

· **Diagnostischer und Kontrolltest während der Schwangerschaft**

hCG und seine freien Untereinheiten α und β scheinen in Serum und Harn schwangerer Frauen etwa 9 Tage nach der Ovulation auf. Der hCG-Spiegel steigt dann rasch an, um zwischen der 8. und 12. Woche eine Spitze zu erreichen.

· **Tumormarkertest bei trophoblastischen Tumoren**

Acephalocystes racemosae und Choriokarzinome können große Mengen an nativem hCG und den beiden freien Untereinheiten α und β in den peripheren Blutkreislauf sezernieren.

· **Tumormarkertest bei nicht trophoblastischen Krebserkrankungen**

10 bis 15 % der Brust-, Lungen- und Verdauungstraktkrebs geben hCG und/oder eine der beiden Untereinheiten α und β ab.

IV. GRUNDSÄTZLICHES ZUR DURCHFÜHRUNG

Der DIASource hCG+β-IRMA ist ein immunradiometrischer Assay in beschichteten Röhrchen, in denen einige monoklonale Antikörper verwendet wurden, die gegen bestimmte Epitopen von hCG gerichtet sind. Mab1, die Fänger-Antikörper, haften an der unteren inneren Oberfläche des Plastikröhrchens. In die Röhrchen zugegebene Kalibratoren oder Proben zeigen zuerst eine niedrige Affinität zu Mab1. Zugabe von Mab2, des mit ¹²⁵I markierten Signalantikörpers, vervollständigt das System und triggert die immunologische Reaktion. Nach dem Waschen gibt die verbleibende, an den Röhrchen haftende Radioaktivität die Antigenkonzentration wieder.

V. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenzien	96 Test Kit	4 x 96 Test Kit	Farbcode	Rekonstitution			
Mit anti hCG+β-beschichtete Röhrchen (monoklonale Antikörper)	2 x 48	8 x 48	Grau	gebrauchsfertig			
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRACER: ¹²⁵ Iodmarkiertes Anti-hCG+β (monoklonale Antikörper) in TRIS Puffer mit Rinderserumalbumin, Azid (<0,1%) und inertem roten Farbstoff	Ab	¹²⁵ I	1 Gefäß 5,5 ml 450 kBq	4 Gefäße 5,5 ml 4x450 kBq	Rot	gebrauchsfertig	
Ab	¹²⁵ I						
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Null-Kalibrator in Rinderserum mit Azid (0,5%)	CAL	0	3 Gefäße 10 ml	8 Gefäße 10 ml	Gelb	gebrauchsfertig	
CAL	0						
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibrator - N = 1 bis 6 (genaue Werte auf Gefäßetiketten) in Rinderserum mit Thymol	CAL	N	6 Gefäße lyophil.	2 x 6 Gefäße lyophil.	Gelb	0,5 ml dest. Wasser zugeben	
CAL	N						
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Waschlösung (TRIS - HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 Gefäß 10 ml	3 Gefäße 10 ml	Braun	70 x mit dest. Wasser verdünnen (Magnetrührer benutzen).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Kontrollen - N = 1 oder 2 Humanserum mit Thymol	CONTROL	N	2 Gefäße lyophil.	2 x 2 Gefäße lyophil.	Silber	0,5 ml dest. Wasser zugeben	
CONTROL	N						

Bemerkung:

- Benutzen Sie Null-Kalibrator zur Probenverdünnung.
- 1 mIU der Kalibratorzubereitung ist äquivalent zu 1mIU 4th IS 75/589

VI. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

Folgendes Material wird benötigt, aber nicht mit dem Kit mitgeliefert:

- Dest. Wasser
- Pipetten: 50 µl und 500 µl (Verwendung von Präzisionspipetten mit Wegwerf-Plastikspitzen wird empfohlen).
- 5 ml automatische Spritze (Cornwall Typ) zum Waschen.
- Absaugsystem (optional).
- Vortex Mixer
- Magnetrührer
- Röhrchen-Schüttler (400 rpm)
- Jegl. Gamma-Counter, der ¹²⁵I messen kann, kann verwendet werden. (minimal Yield 70%)

VII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- Kalibratoren 1-6:** Rekonstituieren Sie die Kalibratoren mit 0,5 ml dest. Wasser.
- Kontrollen:** Rekonstituieren Sie die Kontrollen mit 0,5 ml dest. Wasser.
- Waschlösung:** Bereiten Sie ein angemessenes Volumen Waschlösung aus einem Anteil Waschlösung (70 x) mit 69 Anteilen dest. Wasser zu. Verwenden Sie einen Magnetrührer zum gleichmäßigen Durchmischen. Werfen Sie die nicht benutzte Waschlösung am Ende des Tages weg.

VIII. AUFBEWAHRUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Vor dem Öffnen oder der Rekonstitution sind die Reagenzien des Kits bis zum Ablaufdatum (Angaben auf Etikett) bei Lagerung bei 2°C bis 8°C stabil.
- Nach der Rekonstitution sind die Kalibratoren und Kontrollen bei 2°C bis 8°C 7 Tage stabil. Aliquots müssen bei längerer Aufbewahrung bei -20°C eingefroren werden und sind dann max. 3 Monate stabil. Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
- Frisch zubereitete Waschlösung sollte am selben Tag benutzt werden.
- Nach der ersten Benutzung ist der Tracer bei Aufbewahrung im Originalgefäß und bei 2° bis 8° C bis zum Ablaufdatum stabil.
- Veränderungen im Aussehen der Kitkomponenten können ein Anzeichen für Instabilität oder Zerfall sein.

IX. PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG

- Serum- oder Plasmaproben müssen bei 2-8°C aufbewahrt werden.
- Falls der Test nicht innerhalb von 24 Std. durchgeführt wird, ist die Aufbewahrung bei -20°C erforderlich.
- Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
- Serumproben, EDTA oder heparinisertes Plasma liefern ähnliche Ergebnisse.
 $y(\text{Serum}) = 1,03x(\text{HEP. Plasma}) + 0,07$ $r = 0,99$ $n = 30$
 $y(\text{Serum}) = 1,00x(\text{EDTA Plasma}) - 0,47$ $r = 0,99$ $n = 30$

X. DURCHFÜHRUNG

A. Bemerkungen zur Durchführung

Verwenden Sie den Kit oder dessen Komponenten nicht nach Ablaufdatum. Vermischen Sie Materialien von unterschiedlichen Kit-Chargen nicht. Bringen Sie alle Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur. Mischen Sie alle Reagenzien und Proben gründlich durch sanftes Schütteln oder Rühren. Verwenden Sie saubere Wegwerf-Pipettenspitzen, um Kreuzkontamination zu vermeiden. Präzisionspipetten oder ein automatisches Pipettiersystem erhöhen die Präzision. Achten Sie auf die Einhaltung der Inkubationszeiten. Erstellen Sie für jeden Durchlauf eine Standardkurve, verwenden Sie nicht die Daten von früheren Durchläufen.

B. Durchführung

- Beschriften Sie je 2 beschichtete Röhrchen für jeden Kalibrator, jede Probe und Kontrolle. Zur Bestimmung der Gesamtaktivität beschriften Sie 2 normale Röhrchen.
- Vortexen Sie Kalibratoren, Proben und Kontrollen kurz und geben Sie jeweils 50 µl in ihre Röhrchen.
- Geben Sie 50 µl des Tracers in jedes Röhrchen.
- Schütteln Sie vorsichtig die Halterung mit den Röhrchen um Blasen zu entfernen.
- Inkubieren Sie 30 Minuten bei Raumtemperatur, dabei schütteln (400 rpm). **Inkubationszeit genauestens einhalten.**
- Saugen Sie den Inhalt jedes Röhrchens ab (oder dekantieren Sie) (außer Gesamtaktivität). Vergewissern Sie sich, dass die Plastikspitze des Absaugers den Boden des beschichteten Röhrchens erreicht, um die gesamte Flüssigkeit zu entfernen.
- Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie). Vermeiden Sie Schaumbildung bei Zugabe der Waschlösung.
- Saugen Sie den Inhalt jeden Röhrchens (außer Gesamtaktivität) ab.
- Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie).
- Lassen Sie nach dem letzten Waschen die Röhrchen 2 Minuten aufrecht stehen und saugen Sie den verbleibenden Flüssigkeitstropfen ab.
- Werten Sie die Röhrchen in einem Gamma-Counter 60 Sekunden aus.

XI. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

- Berechnen Sie den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen.
- Tragen Sie auf semilogarithmischem oder linearem Millimeterpapier den c.p.m. (Ordinate) für jeden Standard gegen die entsprechende Konzentration hCG+β (Abszisse) ein und zeichnen Sie eine Standardkurve durch die Standardpunkte, schließen Sie offensichtliche „Ausreißer“ aus.
- Berechnen Sie die Konzentration für jede Kontrolle und Probe durch Interpolation aus der Standardkurve.
- Computergestützte Methoden können ebenfalls zur Erstellung der Kalibrationskurve verwendet werden. Falls die Ergebnisberechnung mit dem Computer durchgeführt wird, empfehlen wir die Berechnung mit einer „4 Parameter“-Kurvenfunktion.

XII. TYPISCHE WERTE

Die folgenden Daten dienen nur zu Demonstrationszwecken und können nicht als Ersatz für die Echtzeitstandardkurve verwendet werden.

hCG+β-IRMA		cpm	B/T (%)
Gesamtaktivität		293692	
Kalibrator	0,0 mIU/ml	194	0,07
	5,5 mIU/ml	1127	0,38
	16,6 mIU/ml	2496	0,85
	54,0 mIU/ml	8095	2,76
	153,0 mIU/ml	25435	8,66
	307,0 mIU/ml	49646	16,90
	585,0 mIU/ml	93037	31,68

XIII. LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN DER METHODIK

A. Nachweisgrenze

Zwanzig Null-Kalibratoren wurden zusammen mit einem Satz anderer Kalibratoren gemessen.

Die Nachweisgrenze, definiert als die scheinbare Konzentration bei zwei Standardabweichungen über dem gemessenen Durchschnittswert bei Nullbindung, entsprach 1,6 mIU/ml.

B. Spezifität

Kreuzreaktive Hormone wurden einem Serum mit niedrigem hCG+β-Wert und einem Kalibrator mit hohem Wert (150 mIU/ml) zugesetzt. Die gezeigte hCG+β-Reaktion wurde gemessen.

Zugesetzte Hormone		CAL 1 Beobachtete hCG-Werte	CAL 2 Beobachtete hCG-Werte
-		9,8 mIU/ml	284 mIU/ml
FSH	250 mIU/ml	11,3 mIU/ml	292 mIU/ml
LH	250 mIU/ml	10,9 mIU/ml	262 mIU/ml
TSH	250 µIU/ml	10,3 mIU/ml	290 mIU/ml
αhCG	34000 fmol/ml	11,0 mIU/ml	252 mIU/ml
βhCG	1000 fmol/ml	361,0 mIU/ml	699 mIU/ml

Das zeigt, dass der hCG+β-IRMA keine Kreuzreaktion mit FSH, LH, TSH oder αhCG aufweist und eine 100% Kreuzreaktion mit der freien β-Kette des hCG aufweist.

Hinweis: Mit den Molekulargewichten 37,9 kDa (hCG), 23,0 kDa (βhCG) und 14,9 kDa (αhCG), sind die molaren Äquivalente:

- hCG : 1000 fmol = 37,9 ng - 325 mIU 1st IRP 75/537
- βhCG : 1000 fmol = 23,0 ng
- αhCG : 1000 fmol = 14,9 ng

C. Präzision

INTRA ASSAY				INTER ASSAY			
Serum	N	<X> ± SD (mIU/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (mIU/ml)	CV (%)
A	20	67,3 ± 1,2	1,8	C	10	35,2 ± 2,2	6,2
B	20	245,9 ± 3,0	1,2	D	10	149,6 ± 12,6	8,4

SD : Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

D. Genauigkeit

WIEDERFINDUNGSTEST			
Probe	Zugeg. hCG+β (mIU/ml)	Wiedergef. hCG+β (mIU/ml)	Wiedergefunden (%)
Serum 1	50,0	52,1	104
	100,0	101,7	104
	200,0	209,0	102
	400,0	417,1	104

VERDÜNNUNGSTEST

Probe	Verdünn.	Theoret. Konz. (mIU/ml)	Gemess. Konz. (mIU/ml)
Serum 1	1/1	563,6	563,6
	1/2	281,8	260,2
	1/4	140,9	126,4
	1/8	70,5	62,6
	1/16	35,2	34,1
	1/32	17,6	18,1
	1/64	8,8	8,7
	1/128	4,4	4,8

Die Proben wurden mit Null-Kalibrator verdünnt.

E. Zeitverzögerung zwischen letzter Kalibrator- und Probenzugabe

Es wird im Folgenden gezeigt, dass die Genauigkeit der Tests selbst dann erhalten bleibt, wenn die Probe 30 Minuten nach Zugabe des Kalibrators in die beschichteten Röhrchen zugefügt wird.

ZEITDIFFERENCE

	0'	10'	20'	30'
Serum 1 (mIU/ml)	31,2	31,1	30,9	31,4
Serum 2 (mIU/ml)	144,1	142,4	140,5	143,5

F. Hook-Effekt

Über 150.000 mIU/ml kann ein Hook-Effekt beobachtet werden. Proben von schwangeren Frauen können so hohe Konzentrationen ergeben. Es wird daher empfohlen, in Fällen, in denen ein exaktes quantitatives Resultat der hCG-Konzentration erreicht werden soll (z.B. Follow-up von Schwangerschaften), 3 Verdünnungen nach dem unten stehenden Schema zu testen.

A: nicht verdünnt

B: 17x verdünnt (25 µl von A + 400 µl Null-Kalibrator)

C: 289x verdünnt (25 µl von B + 400 µl Null-Kalibrator)

Screening für Schwangerschaften sollte nicht verdünnt durchgeführt werden.

XIV. ANWENDUNGSGRENZEN

- Proben von Patienten, die Zubereitungen von monoklonalen Maus-Antikörpern zur Diagnose oder Therapie erhalten haben, können humane Anti-Maus Antikörper (HAMA) enthalten. Solche Proben können entweder falsch erhöhte oder zu niedrige Werte ergeben, wenn sie mit Testsystemen getestet werden, die monoklonale Maus Antikörper enthalten.
- Heterophile Antikörper im humanen Serum können mit Immunglobulinen der Reagenzien reagieren und so mit in vitro Immunoassays interferieren. Patienten, die routinemäßigen Umgang mit Tieren oder Tierseren haben, können zu dieser Interferenz neigen und so können anormale Werte in Gegenwart von heterophilen Antikörpern beobachtet werden. Ergebnisse von Patienten, bei denen diese Antikörper vermutet werden, müssen sorgfältig evaluiert werden. Wenn die Ergebnisse nicht mit anderen klinischen Beobachtungen übereinstimmen, sollten weitere Informationen vor der Diagnosestellung ermittelt werden.

XV. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

- Entsprechen die Ist-Werte nicht den auf den Fläschchen angegebenen Soll-Werten, können die Werte, ohne treffende Erklärung der Abweichungen, nicht weiterverarbeitet werden.
- Falls zusätzliche Kontrollen erwünscht sind, kann jedes Labor seinen eigenen Pool herstellen, der in Aliquots eingefroren werden sollte.
- Akzeptanzkriterien für die Differenz zwischen den Resultaten der Wiederholungstests anhand der Proben müssen auf Guter Laborpraxis beruhen.

XVI. REFERENZINTERVALLE

Diese Werte sind nur Richtwerte; jedes Labor muss seinen eigenen Normalwertbereich ermitteln.

Schwangerschafts-Cut-off-Wert:

Der Cut-off-Wert für die Bestimmung einer Schwangerschaft, definiert als die deutliche Konzentration drei Standardabweichungen über den Durchschnittszählungen von 96 Proben von nicht schwangeren Frauen, betrug 4,6 mIU/ml.

Es wird empfohlen Proben, die zwischen dem Cut-off-Wert und 10 mIU/ml liegen, erneut zu testen.

XVII. VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNUNGEN

Sicherheit

Nur für diagnostische Zwecke.

Dieser Kit enthält ¹²⁵I (Halbwertszeit: 60 Tagen), das ionisierende X (28 keV) und γ (35.5 keV) Strahlungen emittiert.

Dieses radioaktive Produkt kann nur an autorisierte Personen abgegeben und darf nur von diesen angewendet werden; Erwerb, Lagerung, Verwendung und Austausch radioaktiver Produkte sind Gegenstand der Gesetzgebung des Landes des jeweiligen Endverbrauchers. In keinem Fall darf das Produkt an Menschen oder Tieren angewendet werden.

Der Umgang mit radioaktiven Substanzen sollte fern von Durchgangsverkehr in einem speziell ausgewiesenen Bereich stattfinden. Ein Logbuch für Protokolle und Aufbewahrung muss im Labor sein. Die Laborausstattung und die Glasbehälter, die mit radioaktiven Substanzen kontaminiert werden können, müssen gesondert werden, um Kreuzkontaminationen mit unterschiedlichen Radioisotopen zu verhindern. Verschüttete radioaktive Substanzen müssen sofort den Sicherheitsbestimmungen entsprechend entfernt werden. Radioaktive Abfälle müssen entsprechend den lokalen Bestimmungen und Richtlinien der für das Labor zuständigen Behörden gelagert werden. Das Einhalten der Sicherheitsbestimmungen für den Umgang mit radioaktiven Substanzen gewährleistet ausreichenden Schutz.

Die menschlichen Blutkomponenten in diesem Kit wurden mit europäischen und in den USA erprobten FDA-Methoden getestet, sie waren negativ für HBsAG, anti-HCV und anti-HIV 1 und 2. Keine bekannte Methode kann jedoch vollkommene Sicherheit darüber liefern, dass menschliche Blutbestandteile nicht Hepatitis, AIDS oder andere Infektionen übertragen. Deshalb sollte der Umgang mit Reagenzien, Serum oder Plasmaproben in Übereinstimmung mit den Sicherheitsbestimmungen erfolgen.

Alle tierischen Produkte und deren Derivate wurden von gesunden Tieren gesammelt. Komponenten von Rindern stammen aus Ländern, in denen BSE nicht nachgewiesen wurde.

Trotzdem sollten Komponenten, die tierische Substanzen enthalten, als potenziell infektiös betrachtet werden.

Vermeiden Sie Hautkontakt mit den Reagenzien (Natriumazid als Konservierungsmittel). Das Azid in diesem Kit kann mit Blei oder Kupfer in den Abflussrohren reagieren und so hochexplosive Metallazide bilden. Spülen Sie während der Waschschrte den Abfluss gründlich mit viel Wasser, um die Metallazidbildung zu verhindern.

Bitte rauchen, trinken, essen Sie nicht in Ihrem Arbeitsbereich, und verwenden Sie keine Kosmetika. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Verwenden Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

XVIII. LITERATUR

- BRAUNSTEIN G.D., RASOR J., ADLER D., DANZER H., WADE H.E., (1976)
Serum chorionic gonadotropin levels throughout normal pregnancy.
Am. J. Obstet. Gynecol., 126:678.
- CHEN F., SETSUKO G., YOSHIHITO F., YUTAKA T., (1987)
Radioimmunoassay of the serum free β -subunit of human chorionic gonadotropin in trophoblastic disease.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:313.
- DAWOOD M.Y., SASCENA B.B., LANDESMAN R., (1977)
Human chorionic gonadotropin and its subunit in hydatidiform mole and choriocarcinoma.
Obstet. Gynecol., 50:172.
- HAY D.L., (1982)
Chorionic gonadotropin.
Clin. Biochem., 3:35.

- GASPARD V.J., REUTER A.M., DEVILLE J.L., VRINDTS-GEVAERT Y., BAGSHAW K.D., FRANCHIMONT P., (1980)
Serum concentration of human chorionic gonadotropin and its alpha and beta subunit II Trophoblastic tumours.
Clin. Endocrinol. (Oxf.), 13:219.
- PIERCE J.G., PARSONS T.F., (1981)
Glycoprotein hormones : structure and function.
Annu. Rev. Biochem., 50:465.
- MANCINI G. et al., (1992)
hCG, AFP and V E₃ pattern in the 14-20th weeks of Down's syndrome pregnancies.
Prenatal Diagnost., 12(7):619-24.
- WHITEHEAD N. et al., (1993)
Elevated material serum human chorionic gonadotropin increases the chance of adverse pregnancy outcome.
Am. J. Obstet. Gynecol., 169(5):1359-60.

XIX. ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

	GESAMT-AKTIVITÄT (ml)	KALIBRATOREN (ml)	PROBE(N) KONTROLLEN (ml)
Kalibratoren (0-5) Proben, Kontrollen Tracer	- - 0,05	0,05 - 0,05	- 0,05 0,05
Inkubation	30 Minuten. bei Raumtemperatur mit Schütteln (400 rpm)		
Trennung Waschlösung Trennung Waschlösung Trennung	- - - - -	absaugen (oder dekant.) 2,0 absaugen (oder dekant.) 2,0 absaugen (oder dekant.)	
Gamma Counter	60 Sekunden messen		

DIASource Katalognummer : KIP0981 – KIP0984	Beipackzettelnummer: 1700467/de	Nummer der Originalausgabe: 110218/1
--	------------------------------------	--

Revisionsdatum : 2011-02-18

Lees het hele protocol vóór gebruik.

hCG+ β -IRMA

I. BEOOGD GEBRUIK

Immunoradiometrische testkit voor de in vitro kwantitatieve meting van humaan chorionisch gonadotrofine (hCG) in serum en plasma.

Deze testkit mag niet worden gebruikt bij de evaluatie van het risico op trisomie 21.

II. ALGEMENE INFORMATIE

A. **Gedeponeerd handelsmerk:** DIAsource hCG+ β -IRMA kit

B. **Catalogusnummer:**
KIP0981: 96 testen
KIP0984: 4 x 96 testen

C. **Geproduceerd door:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, België.

Voor technische assistentie of voor bestelinformatie kunt u contact opnemen met:
Tel.: +32 (0)10 84 99 11 - Fax: +32 (0)10 84 99 90

III. KLINISCHE ACHTERGROND

A. Biologische activiteiten

hCG is een glycoproteïne dat gesynthetiseerd wordt door de syncytiotrofoblast van de placenta gedurende de zwangerschap. Het moleculair gewicht van hCG is 37,9 kDa – het bevat twee subunits. De hCG α subunit – moleculair gewicht 14,9 kDa - is chemisch gelijkaardig aan de α subunits van FSH, LH en TSH hormonen. De hCG β subunit - moleculair gewicht 23,0 kDa – heeft een structuur gelijkaardig aan die van de LH β subunit, waarvan het slechts in enkele epitopen verschilt. hCG heeft biologische eigenschappen gelijkaardig aan die van LH. Gedurende de zwangerschap stimuleert hCG het overgebleven corpus luteum en het weefsel van de placenta om de verschillende steroïde hormonen af te scheiden. Naast zijn stimulerende werking op het luteale weefsel en dat van de placenta is hCG, door het kruisen van de placenta, essentieel om de genitale tractus van de foetus te differentiëren, wat voorkomt rond de 7de week van de zwangerschap.

B. Klinische toepassing

· *Diagnostische en observerende test bij zwangerschap*

hCG en zijn vrije subunits α en β komen voor in het serum en de urine van zwangere vrouwen ongeveer 9 dagen na de ovulatie. Het hCG-gehalte verhoogt dan snel om een piek te bereiken tussen de 8ste en de 12de week.

· *Tumor marker test bij trofoblast tumoren*

Hydatiforme moedervlekken en choriocarcinoom kunnen grote hoeveelheden natief hCG en zijn twee vrije subunits α en β in de perifere bloedcirculatie afscheiden.


· *Tumor marker test bij non-trofoblast kankers*

10 tot 15 % van de borst-, long-, en darmkankers geven hCG en/of zijn twee constitutieve subunits α and β vrij.

IV. BESCHRIJVING VAN DE METHODE

hGH-Irma van DIASource is een immunoradiometrische test die gebaseerd is op een scheiding aan de hand van een gecoatete buis, waarin verschillende monoklonale antilichamen gebruikt zijn, gericht tegen verschillende epitopen van hCG. Mabs1, de invangantilichamen, zijn onderaan aan het binnenoppervlak van de plastic buis gehecht. Kalibrators of monsters die toegevoegd worden aan de tubes zullen aanvankelijk een lage affiniteit vertonen voor Mabs1. Toevoeging van Mab2, het signaalgenererend antilichaam dat gelabeld werd met ¹²⁵I, zal het systeem vervolledigen en de immunologische reactie teweegbrengen. Na de wasfase geeft de overblijvende radioactiviteit, gebonden aan de buis, de antigeenconcentratie weer.

V. GELEVERDE REAGENTIA

Reagentia	Kit met 96 testen	Kit met 4 x 96 testen	Kleur-code	Reconstitutie			
 buizen gecoat met anti-hCG+β (monoklonale antilichamen)	2 x 48	2 x 48	grijs	Klaar voor gebruik			
<table border="1" data-bbox="87 660 231 705"> <tr> <td>Ab</td> <td>¹²⁵I</td> </tr> </table> TRACER: Anti-hCG+β (monoklonale antilichamen) gelabeld met ¹²⁵ Jood in TRIS buffer met bovien serumalbumine, azide (< 0,1%) en een inerte rode kleurstof	Ab	¹²⁵ I	1 flacon 5,5 ml 450 kBq	4 flacons 5,5 ml 4x450 kBq	rood	Klaar voor gebruik	
Ab	¹²⁵ I						
<table border="1" data-bbox="87 851 231 896"> <tr> <td>CAL</td> <td>0</td> </tr> </table> Nulkalibrator in bovien serum met azide (0,5 %)	CAL	0	3 vials 10 ml	8 vials 10 ml	geel	Klaar voor gebruik	
CAL	0						
<table border="1" data-bbox="87 963 231 1008"> <tr> <td>CAL</td> <td>N</td> </tr> </table> Kalibrator - N = 1 tot 6 (raadpleeg de flaconetiketten voor de exacte waarden) in bovien serum met thymol	CAL	N	6 flacons, gevries-droogd	2 x 6 flacons, gevries-droogd	geel	0,5 ml gedestilleerd water toevoegen	
CAL	N						
<table border="1" data-bbox="87 1120 231 1164"> <tr> <td>WASH</td> <td>SOLN</td> <td>CONC</td> </tr> </table> Wasoplossing (TRIS - HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 flacon 10 ml	3 flacons 10 ml	bruin	70 x met gedestilleerd water verdunnen (gebruik een magnetische roerder).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1" data-bbox="87 1265 231 1310"> <tr> <td>CONTROL</td> <td>N</td> </tr> </table> Controles - N = 1 of 2 in humaan serum met thymol	CONTROL	N	2 flacons, gevries-droogd	2 x 2 flacons, gevries-droogd	zilver	0,5 ml gedestilleerd water toevoegen	
CONTROL	N						

Opmerking:

1. Gebruik Nulkalibrator voor monsterverdunningen
2. 1 mIE van de kalibratorbereiding is gelijk aan 1 mIE van de ^{3rd} IS 75/537

VI. NIET MEEGELEVERDE MATERIALEN

De volgende materialen zijn noodzakelijk maar worden niet meegeleverd met de kit:

1. Gedestilleerd water.
2. Pipetten voor een volume van 50 µl en 500 µl (het gebruik van nauwkeurige pipetten met plastic wegwerptips wordt aanbevolen).
3. Automatische spuit van 5 ml (type Cornwall) voor de wasfase.
4. Afzuigsysteem (facultatief).
5. Vortexmenger.
6. Magnetische roerder.
7. Schudder voor de buisjes (400 rpm)
8. Een gammateller die geschikt is voor de bepaling van ¹²⁵I (rendement van ten minste 70%).

VII. BEREIDING VAN HET REAGENS

- A. Kalibrators 1-6:** Reconstitueer de kalibrators met 0,5 ml gedestilleerd water.
- B. Controles:** Reconstitueer de controles met 0,5 ml gedestilleerd water.
- C. Werk-wasoplossing:** Bereid een voldoende hoeveelheid werk-wasoplossing door 69 eenheden gedestilleerd water toe te voegen aan 1 eenheid wasoplossing (70 x). Gebruik een magnetische roerder voor de homogenisering. Op het eind van de dag moet de ongebruikte werk-wasoplossing afgevoerd worden.

VIII. OPSLAG EN VERVALDATUM VAN REAGENTIA

- Vóór opening of reconstitutie zijn alle kitcomponenten houdbaar tot de vervaldatum, zoals vermeld op het etiket, indien zij bewaard werden bij 2 tot 8°C.
- Na reconstitutie zijn de kalibrators en de controles gedurende 7 dagen houdbaar bij 2 tot 8°C. Voor een langere bewaartermijn moeten aliquots gemaakt worden, die bij -20°C bewaard moeten worden voor maximaal 3 maanden. Vermijd opeenvolgende cycli van bevriezen en ontdooien
- Een vers bereide werk-wasoplossing moet op dezelfde dag nog gebruikt worden.
- Na het eerste gebruik is de tracer houdbaar tot de vervaldatum, indien bewaard bij 2 tot 8°C in de oorspronkelijke, goed afgesloten flacon.
- Wijzigingen in het fysieke aspect van kitreagentia kunnen wijzen op instabiliteit of op een kwaliteitsvermindering.

IX. MONSTERAFFNAME EN MONSTERBEREIDING

- Serum en plasma monsters moeten bij 2 tot 8°C bewaard worden.
- Indien de test niet binnen 24 uur uitgevoerd wordt, dan wordt aanbevolen om ze bij -20°C te bewaren.
- Vermijd opeenvolgende cycli van bevriezen en ontdooien
- Serum en plasma (EDTA en heparine) leveren vergelijkbare resultaten op.
 $y(\text{Serum}) = 1,03x(\text{HEP. Plasma}) + 0,07$ $r = 0,99$ $n = 30$
 $y(\text{Serum}) = 1,00x(\text{EDTA Plasma}) - 0,47$ $r = 0,99$ $n = 30$

X. PROCEDURE

A. Opmerkingen bij de procedure

Gebruik de kit of de componenten niet langer dan de aangegeven vervaldatum. Materialen van kits van verschillende loten mogen niet gemengd worden. Laat alle reagentia op kamertemperatuur komen vóór gebruik.

Meng alle reagentia en monsters goed door ze voorzichtig te bewegen of door er voorzichtig mee te draaien. Om kruisbesmetting te vermijden, moet een propere wegwerpbare pipettip gebruikt worden voor toevoeging van elk reagens en monster.

Pipetten met een grote precisie of geautomatiseerde pipetteapparatuur zullen de precisie verhogen. Respecteer de incubatietijden.

Bereid een kalibratiecurve voor elke run; men mag geen gegevens gebruiken van voorafgaande runs.

B. Procedure

1. Etiketteer de gecoatete buisjes in duplo voor elke kalibrator, voor elk monster, voor elke controle. Etiketteer 2 normale buizen voor de bepaling van de totaal tellingen.
2. Vortex de kalibrators, monsters en controles gedurende korte tijd en pipetteer 50 µl van elk in de desbetreffende buis.
3. Pipetteer 50 µl van de tracer in elke buis.
4. Schud het rek met de buizen voorzichtig met de hand zodat eventueel ingesloten luchtballen vrijkomen.
5. Incubeer gedurende 30 minuten bij kamertemperatuur terwijl er voortdurend mee geschud wordt (400 rpm). **Respecteer nauwlettend de incubatietijd.**
6. Zuig de inhoud van elke buis (met uitzondering van de totaal tellingen) op (of decanteer). Zorg ervoor dat de plastic tip van de aspirator tot aan de bodem van de gecoatete buis komt zodat alle vloeistof verwijderd wordt.
7. Was de buizen met 2 ml werk-wasoplossing (met uitzondering van de totaal tellingen). Vermijd schuimvorming tijdens toevoeging van de werk-wasoplossing.
8. Zuig de inhoud van elke buis (met uitzondering van de totaal tellingen) op (of giet het over).
9. Was de buizen nogmaals met 2 ml werk-wasoplossing (met uitzondering van de totaal tellingen) en zuig op (of decanteer).
10. Na de laatste wasfase moeten de buizen gedurende twee minuten rechtop blijven staan en zuig daarna de overblijvende vloeistof op.
11. Tel de buizen in een gammateller gedurende 60 seconden.

XI. BEREKENING VAN DE RESULTATEN

1. Bereken het gemiddelde voor de bepalingen in duplo.
 2. Zet de cpm (ordinaat) uit voor elke kalibrator tegen de overeenkomstige hCG+β -concentratie (abscis) op semi-logaritmisch of lineair millimeterpapier en teken een kalibratiecurve door de kalibratiepunten, waarbij de duidelijke uitschieters verworpen worden.
 3. Lees door interpolatie de concentratie voor elke controle en voor elk monster op de kalibratiecurve.
 4. Door computergestuurde gegevensreductie worden deze berekeningen vereenvoudigd.
- Indien de resultaten automatisch verwerkt worden, wordt de 4 parameter logistische functie aanbevolen voor de gepaste curve.

XII. KENMERKENDE GEGEVENS

De volgende gegevens dienen enkel ter illustratie en mogen in geen geval gebruikt worden ter vervanging van de real time kalibratiecurve.

hCG+β IRMA		cpm	B/T (%)
Totaaltelling		293692	
Kalibrator	0,0 mIE/ml	194	0,07
	5,5 mIE/ml	1127	0,38
	16,6 mIE/ml	2496	0,85
	54,0 mIE/ml	8095	2,76
	153,0 mIE/ml	25435	8,66
	307,0 mIE/ml	49646	16,90
	585,0 mIE/ml	93037	31,68

XIII. EIGENSCHAPPEN EN GRENZEN

A. Detectielimiet

Twintig nulkalibrators werden bepaald, samen met een reeks andere kalibrators. De detectielimiet, omschreven als de schijnbare concentratie van twee standaarddeviaties boven de gemiddelde tellingen bij nulbinding, bedroeg 1,6 mIE/ml.

B. Specificiteit

Kruis-reactieve hormonen werden toegevoegd aan een serum met een laag hCG+β-gehalte en aan een kalibrator met een hoge waarde (150 mIE/ml). De bijhorende hCG+β respons werd gemeten.

Toegevoegde hormonen		CAL 1 Waargenomen hCG waarden	CAL 2 Waargenomen hCG waarden
-		9,8 mIE/ml	284 mIE/ml
FSH	250 mIE/ml	11,3 mIE/ml	292 mIE/ml
LH	250 mIE/ml	10,9 mIE/ml	262 mIE/ml
TSH	250 μIE/ml	10,3 mIE/ml	290 mIE/ml
αhCG	34000 fmol/ml	11,0 mIE/ml	252 mIE/ml
βhCG	1000 fmol/ml	361,0 mIE/ml	699 mIE/ml

Dit toont aan dat de hCG+β-IRMA niet kruis-reageert met FSH, LH, TSH, αhCG en een kruis-reactie van 100% vertoont met de vrije β-keten van hCG.

Nota : Bij gebruik van de volgende moleculaire gewichten 37.9 kDa (hCG), 23.0 kDa (βhCG) en 14.9 kDa (αhCG), zijn de molaire equivalenten :
 - hCG : 1000 fmol = 37.9 ng - 325 mIE 1st IRP 75/537
 - βhCG : 1000 fmol = 23.0 ng
 - αhCG : 1000 fmol = 14.9 ng

C. Precisie

BINNEN EEN TEST				TUSSEN TESTEN			
Serum	N	<X> ± SD (mIE/ml)	VC (%)	Serum	N	<X> ± SD (mIE/ml)	VC (%)
A	20	67,3 ± 1,2	1,8	C	10	35,2 ± 2,2	6,2
B	20	245,9 ± 3,0	1,2	D	10	149,6 ± 12,6	8,4

SD: standaarddeviatie; VC: variatiecoëfficiënt

D. Nauwkeurigheid

RECOVERY –TEST

Monster	Toegevoegd hCG+β (mIE/ml)	Recovery van hCG+β (mIE/ml)	Recovery (%)
Serum 1	50,0	52,1	104
	100,0	101,7	104
	200,0	209,0	102
	400,0	417,1	104

VERDUNNINGSTEST

Monster	Verdunning	Theoretische concentratie (mIE/ml)	Concentratie die bepaald werd (mIE/ml)
Serum 1	1/1	563,6	563,6
	1/2	281,8	260,2
	1/4	140,9	126,4
	1/8	70,5	62,6
	1/16	35,2	34,1
	1/32	17,6	18,1
	1/64	8,8	8,7
	1/128	4,4	4,8

Het staal is verdund met Nulkalibrator.

F. Tijdsduur tussen de laatste kalibrator en distributie van het monster
 Zoals hieronder weergegeven wordt, blijven de resultaten van de bepaling nauwkeurig, zelfs wanneer een monster 30 minuten na toevoeging van de kalibrator in de gecoatete buizen gepipetteerd wordt.

TIJDSDUUR

	0'	10'	20'	30'
Serum 1 (mIE/ml)	31,2	31,1	30,9	31,4
Serum 2 (mIE/ml)	144,1	142,4	140,5	143,5

G. "Hook"-effect

Een "Hook"-effect kan worden waargenomen boven 150000 mIE/ml. Monsters van zwangere vrouwen kunnen zulke hoge concentraties opleveren. Daarom is het aan te raden, in gevallen waar een accuraat kwantitatief resultaat van de hCG-concentratie bekomen moet worden (vb. opvolgen van zwangerschappen), om 3 verdunningen te testen zoals aangegeven in het onderstaande schema.

A: onverdund

B: 17x verdund (25 μl van A + 400 μl nulkalibrator)

C: 289x verdund (25 μl van B + 400 μl nulkalibrator)

Screenings voor zwangerschappen moeten onverdund getest worden.

XIV. BEPERKINGEN

- Specimens van patiënten die voor de diagnose of behandeling preparaten hebben gekregen van monoklonale antilichamen van muizen kunnen humane anti-muis-antilichamen (HAMA) bevatten. Dergelijke specimens kunnen ofwel vals-verhoogde of vals-verlaagde waarden vertonen wanneer ze met testkits worden getest waarbij gebruik wordt gemaakt van monoklonale antilichamen van muizen.
- Heterofiele antilichamen in humaan serum kunnen reageren met reagensimmunoglobulinen, wat een effect kan hebben op in vitro immunoassays. Patiënten die regelmatig aan dieren of dierlijke serumproducten worden blootgesteld, kunnen vatbaar zijn voor een dergelijk effect, terwijl afwijkende waarden kunnen worden waargenomen wanneer heterofiele antilichamen aanwezig zijn. Beoordeel de resultaten zorgvuldig van patiënten van wie vermoed wordt dat ze deze antilichamen hebben. Als de resultaten niet overeenstemmen met andere klinische waarnemingen moet bijkomende informatie worden verkregen voordat de diagnose wordt gesteld.

XV. INTERNE KWALITEITSCONTROLE

- Indien de resultaten, die verkregen werden voor controle 1 en/of controle 2, niet binnen het bereik vallen zoals vermeld op het flaconetiket, dan mogen de resultaten niet gebruikt worden tenzij een bevredigende uitleg gegeven wordt voor de discrepantie.
- Indien gewenst, kan elk laboratorium zijn eigen pools voor controlemonsters maken, die dan in aliquots bewaard moeten worden in de diepvriezer.
- Aanvaardingscriteria voor het verschil tussen de resultaten in duplo van monsters moeten steunen op gangbare laboratoriumpraktijken.

XVI. REFERENTIE-INTERVALS

Deze waarden worden slechts als leidraad gegeven; elk laboratorium moet zijn eigen normaal bereik van waarden uitmaken.

Zwangerschapsgrens:

De grens voor de bepaling van zwangerschap, gedefinieerd als de bijhorende concentratie drie standaard deviaties boven de gemiddelde tellingen van 96 stalen van niet zwangere vrouwen, was 4,6 mIE/ml.

Het is aanbevolen om stalen met een resultaat tussen 0 en 10 mIE/ml te hertesten.

XVII. VOORZORGSMAATREGELEN EN WAARSCHUWINGEN

Veiligheid

Uitsluitend voor in vitro diagnostisch gebruik.

Deze kit bevat ¹²⁵I (halfwaardetijd: 60 dagen), dat ioniserende X- (28 keV) en γ -stralen (35.5 keV) uitzendt. Dit radioactieve product mag enkel overhandigd worden aan en gebruikt worden door bevoegd personeel; ontvangst, opslag, gebruik en overdracht van radioactieve producten zijn onderworpen aan de wetgeving van het land van de eindgebruiker. In geen geval mag het product toegediend worden aan mensen of dieren.

Alle handelingen met radioactief materiaal moeten plaatsvinden in een daartoe bestemde ruimte, waar uitsluitend bevoegd personeel toegelaten wordt. Een logboek met ontvangst en opslag van radioactieve materialen moet worden bijgehouden in het laboratorium. Laboratoriumapparatuur en glaswerk, dat eventueel gecontamineerd werd met radioactieve bestanddelen, moeten worden gesegregeerd om kruisbesmetting van verschillende radioisotopen te vermijden.

Als radioactief materiaal gemorst werd, dan moet dat onmiddellijk gereinigd worden in overeenstemming met de procedure voor stralingsveiligheid. Het radioactieve afval moet worden weggegooid in overeenstemming met de plaatselijke voorschriften en richtlijnen van de autoriteiten waaronder het laboratorium valt. Naleving van de basisregels van stralingsveiligheid zorgt voor een juiste bescherming.

De componenten, afkomstig van menselijk bloed, in deze kit werden getest door in Europa goedgekeurde en/of door de Amerikaanse FDA goedgekeurde methoden op aanwezigheid van HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 en 2 en gaven een negatief resultaat. Geen enkele bekende methode kan echter volledige garantie bieden dat derivaten van menselijk bloed geen hepatitis, aids of andere infecties overdragen. Daarom moet men reagentia, serum- of plasmamonsters behandelen in overeenstemming met de plaatselijke veiligheidsprocedures.

Alle producten en derivaten van dierlijke oorsprong zijn afkomstig van gezonde dieren. Boviene componenten komen uit landen waar BSE niet gerapporteerd werd. Toch moeten componenten die bestanddelen van dierlijke oorsprong bevatten, behandeld worden als potentieel infectieus materiaal.

Vermijd dat de reagentia (natriumazide als conserveermiddel) in contact komen met de huid. Azide in deze kit kan reageren met lood en koper in de afvoerleidingen en op die manier zeer explosieve metaalaziden vormen. Tijdens de wasfase moeten de afvoerleidingen ruimschoots met water nagespoeld worden om ophoping van azide te vermijden.

Niet roken, drinken, eten of cosmetica aanbrengen in de werkruimte. Niet met de mond pipetteren. Draag beschermende kleding en gebruik wegwerphandschoenen.

XVIII. BIBLIOGRAFIE

- BRAUNSTEIN G.D., RASOR J., ADLER D., DANZER H., WADE H.E., (1976)
Serum chorionic gonadotropin levels throughout normal pregnancy.
Am. J. Obstet. Gynecol., 126:678.
- CHEN F., SETSUKO G., YOSHIHITO F., YUTAKA T., (1987)
Radioimmunoassay of the serum free β -subunit of human chorionic gonadotropin in trophoblastic disease.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:313.
- DAWOOD M.Y., SASCENA B.B., LANDESMAN R., (1977)
Human chorionic gonadotropin and its subunit in hydatidiform mole and choriocarcinoma.
Obstet. Gynecol., 50:172.
- HAY D.L., (1982)
Chorionic gonadotropin.
Clin. Biochem., 3:35.

- GASPARD V.J., REUTER A.M., DEVILLE J.L., VRINDTS-GEVAERT Y., BAGSHAW K.D., FRANCHIMONT P., (1980)
Serum concentration of human chorionic gonadotropin and its alpha and beta subunit II Trophoblastic tumours.
Clin. Endocrinol. (Oxf.), 13:219.
- PIERCE J.G., PARSONS T.F., (1981)
Glycoprotein hormones : structure and function.
Annu. Rev. Biochem., 50:465.
- MANCINI G. et al., (1992)
hCG, AFP and V E₃ pattern in the 14-20th weeks of Down's syndrome pregnancies.
Prenatal Diagn., 12(7):619-24.
- WHITEHEAD N. et al., (1993)
Elevated material serum human chorionic gonadotropin increases the chance of adverse pregnancy outcome.
Am. J. Obstet. Gynecol., 169(5):1359-60.

XIX. SAMENVATTING VAN HET PROTOCOL

	TOTAAL-TELLINGEN (ml)	KALIBRATORS (ml)	MONSTER(S) CONTROLES (ml)
Kalibrators (0 -6) Monsters, Controles Tracer	- - 0,05	0,05 - 0,05	- 0,05 0,05
Incubatie	30 minuten bij kamertemperatuur terwijl er voortdurend mee geschud wordt (400 rpm)		
Scheiding Werk-wasoplossing Scheiding Werk-wasoplossing Scheiding	- - - - -	opzuigen (of decanteren) 3,0 opzuigen (of decanteren) 3,0 opzuigen (of decanteren)	
Telling	Tel de buisjes gedurende 60 seconden		

DIAsource catalogusnummer: KIP0981 – KIP0984	Nummer van de bijsluiters: 1700467/nl	Revisienummer: 110218/1
---	--	----------------------------

Revisie datum : 2011-02-18

Διαβάστε ολόκληρο το πρωτόκολλο πριν από τη χρήση.

hCG+β IRMA

I. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Ραδιοανοσολογικός προσδιορισμός για την ποσοτική μέτρηση *in vitro* της χοριακής γοναδοτροπίνης (hCG) σε ανθρώπινο ορό και πλάσμα.

Αυτό το kit δεν προορίζεται για την αξιολόγηση κινδύνου τρισωμίας 21.

II. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

- A. **Εμπορική ονομασία:** hCG+β-IRMA της DIASource
- B. **Αριθμός καταλόγου:** KIP0981 : 96 προσδιορισμοί
KIP0984 : 4 x 96 προσδιορισμοί
- Γ. **Κατασκευάζεται από την:** DIASource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

Για τεχνική βοήθεια ή πληροφορίες σχετικά με παραγγελίες επικοινωνήστε στα:
Τηλ.: +32 (0)10 84.99.11 Fax: +32 (0)10 84.99.90

III. ΚΛΙΝΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

A. Βιολογική δράση

Η hCG είναι μια γλυκοπρωτεΐνη που συντίθεται από τη συγκυτιοτροφοβλάστη του πλακούντα καθ' όλη τη διάρκεια της κύησης. Η hCG - μοριακό βάρος 37.9 kDa - περιλαμβάνει δύο υπομονάδες. Η υπομονάδα α της hCG - μοριακό βάρος 14.9 kDa - είναι χημικά παρόμοια με τις υπομονάδες α των ορμονών FSH, LH και TSH. Η β υπομονάδα της hCG - μοριακό βάρος 23.0 kDa - έχει δομή παρόμοια με εκείνη της β υπομονάδας της LH, διαφέροντας μόνο ως προς μερικούς επιτόπους. Η hCG έχει βιολογικά χαρακτηριστικά παρόμοια με εκείνα της LH. Κατά τη διάρκεια της κύησης, η hCG διεγείρει το εναπομείναν ωχρό σωματίο και τον ιστό του πλακούντα ώστε να λάβει χώρα έκκριση των διαφόρων στεροειδών ορμονών. Εκτός από τη διεγερτική της δράση στο ωχρό σωματίο και τον ιστό του πλακούντα, η hCG, διασχίζοντας τον πλακούντα, είναι σημαντική για τη διαφοροποίηση της γεννητικής οδού του εμβρύου, κάτι που συμβαίνει περίπου την 7η εβδομάδα της κύησης.


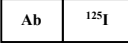
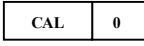
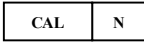

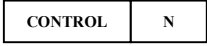
B. Κλινική εφαρμογή του προσδιορισμού hCG+β - IRMA

- **Διαγνωστική αξία και αξία παρακολούθησης κατά την κύηση**
Η hCG και οι ελεύθερες υπομονάδες της α και β εμφανίζονται στον ορό και τα ούρα εγκύων γυναικών περίπου 9 ημέρες μετά την ωοθυλακιορρηξία. Στη συνέχεια, τα επίπεδα της hCG αυξάνονται ταχέως και φθάνουν στο ανώτατο σημείο τους μεταξύ της 8ης και της 12ης εβδομάδας.
- **Εξέταση δείκτη όγκων σε τροφοβλαστικούς όγκους**
Οι υδατιδώδεις μήλες και τα χοριοκαρκινώματα ενδέχεται να εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες φυσικής hCG και των δύο υπομονάδων της α και β στην περιφερική κυκλοφορία του αίματος.
- **Εξέταση δείκτη όγκων σε μη τροφοβλαστικούς καρκίνους**
10 έως 15 % των καρκίνων του μαστού, του πνεύμονα και της πεπτικής οδού προκαλούν έκλυση της hCG ή/και οποιασδήποτε από τις δύο συστατικές υπομονάδες της α και β.

IV. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Ο προσδιορισμός hCG+β - IRMA της DIASource είναι ένας ανοσοραδιομετρικός προσδιορισμός, που βασίζεται στο διαχωρισμό επιστρωμένων σωληναρίων, κατά τον οποίο έχουν χρησιμοποιηθεί αρκετά μονοκλωνικά αντισώματα που κατευθύνονται έναντι διακριτών επιτόπων της hCG. Το Mab 1, το αντίσωμα σύλληψης, προσκολλάται στην κάτω και εσωτερική επιφάνεια του πλαστικού σωληναρίου. Οι βαθμονομητές ή τα δείγματα που προστίθενται στα σωληνάρια θα επιδείξουν αρχικά χαμηλό βαθμό συγγένειας για το Mab 1. Προσθήκη Mab 2, του αντισώματος σήματος, το οποίο είναι σηματοδοτημένο με ¹²⁵I, θα ολοκληρώσει το σύστημα και θα ενεργοποιήσει την ανοσολογική αντίδραση. Μετά την πλύση, η υπολειπόμενη ραδιενέργεια, που είναι δεσμευμένη στο σωληνάριο, αντανακλά τη συγκέντρωση του αντιγόνου.

V. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Αντιδραστήρια	Κιτ 96 προσδιορισμών	Κιτ 4x96 προσδιορισμών	Χρωματικός κωδικός	Ανασύσταση
 Σωληνάρια επιστρωμένα με αντι-hCG+β (μονοκλωνικά αντισώματα)	2 x 48	8 x 48	γκρι	Έτοιμο για χρήση
 Αντι-hCG+β (μονοκλωνικά αντισώματα) σηματοδοτημένα με ¹²⁵ I σε ρυθμιστικό διάλυμα TRIS με βόεια ορολευκωματίνη, αζίδιο του νατρίου (<0,1%) και αδρανής κόκκινη χρωστική	1 φιαλίδιο 5,5 ml 450 kBq	4 φιαλίδια 5,5 ml 4x450 kBq	κόκκινο	Έτοιμο για χρήση
 Βαθμονομητές 0 σε βόειο ορό και αζίδιο (0,5 %)	3 φιαλίδια 10 ml	8 φιαλίδια 10 ml	κίτρινο	Έτοιμο για χρήση
 Βαθμονομητές 1-6 σε βόειο ορό και θυμόλη (δείτε ακριβή τιμή πάνω στις ετικέτες των φιαλιδίων)	6 φιαλίδια λυοφιλ.	6 x 2 φιαλίδια λυοφιλ.	κίτρινο	Προσθέστε 0,5 ml απεσταγμένου νερού
 Διάλυμα πλύσης (TRIS-HCl)	1 φιαλίδιο 10 ml	3 φιαλίδια 10 ml	καφέ	Αραιώστε 70x με απεσταγμένο νερό (χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα).
 Οροί ελέγχου 1 και 2 σε ανθρώπινο ορό με θυμόλη	2 φιαλίδια λυοφιλ.	2 x 2 φιαλίδια λυοφιλ.	ασημί	Προσθέστε 0,5 ml απεσταγμένου νερού

Σημείωση: Χρησιμοποιήστε επίσης το περιεχόμενο του μηδενικού βαθμονομητή για αραιώσεις δειγμάτων. 1 mIU του παρασκευάσματος του βαθμονομητή είναι ισοδύναμο με 1 mIU of 4^{ου} IS 75/589

VI. ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Τα ακόλουθα υλικά απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται στο κιτ:

1. Απεσταγμένο νερό
2. Πιπέτες για διανομή: 50 μl και 500 μl (συνιστάται η χρήση πιπετών ακριβείας με αναλώσιμα πλαστικά ρύγχη)
3. Αναμεικτής στροβιλισμού (τύπου vortex)
4. Μαγνητικός αναδευτήρας
5. Αναδευτήρας σωληναρίων (400 rpm)
6. Αυτόματη σύριγγα των 5 ml (τύπου Cornwall) για πλύση
7. Σύστημα αναρρόφησης (προαιρετικό)
8. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοσδήποτε απαριθμητής μετρητής γ ακτινοβολίας με δυνατότητα μέτρησης της ¹²⁵I (ελάχιστη απόδοση 70%).

VII. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

- A. Βαθμονομητές 1-6:** Ανασυστήστε τους βαθμονομητές με 0,5 ml απεσταγμένου νερού.

- B. Οροί ελέγχου:** Ανασυστήστε τους ορούς ελέγχου με 0,5 ml απεσταγμένου νερού.
- Γ. Διάλυμα πλύσης εργασίας:** Προετοιμάστε επαρκή όγκο διαλύματος πλύσης εργασίας με προσθήκη 69 όγκων απεσταγμένου νερού σε 1 όγκο διαλύματος πλύσης (70x). Χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα για την ομογενοποίηση. Απορρίψτε το μη χρησιμοποιημένο διάλυμα πλύσης εργασίας στο τέλος της ημέρας.

VIII. ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΛΗΞΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

- Πριν από το άνοιγμα ή την ανασύσταση, όλα τα συστατικά του κιτ παραμένουν σταθερά έως την ημερομηνία λήξης, η οποία αναγράφεται στην ετικέτα, εφόσον διατηρούνται σε θερμοκρασία 2 έως 8° C.
- Μετά την ανασύσταση, οι βαθμονομητές και οι οροί ελέγχου παραμένουν σταθεροί για μία εβδομάδα σε θερμοκρασία 2 έως 8° C. Για μεγαλύτερες περιόδους φύλαξης, πρέπει να σχηματίζονται κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης και να διατηρούνται στους -20° C για 3 μήνες. Αποφεύγετε τη διαδοχική κατάψυξη και απόψυξη.
- Φρέσκο, παρασκευασμένο διάλυμα πλύσης εργασίας θα πρέπει να χρησιμοποιείται την ίδια ημέρα.
- **Μετά την πρώτη χρήση του, ο ιχνηθέτης παραμένει σταθερός έως την ημερομηνία λήξης, εφόσον διατηρείται στο αρχικό, ερμητικά κλειστό φιαλίδιο σε θερμοκρασία 2 έως 8° C.**
- Τυχόν μεταβολές της φυσικής εμφάνισης των αντιδραστηρίων του κιτ ενδέχεται να υποδηλώνουν αστάθεια ή αλλοίωση.

IX. ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- Τα δείγματα ορού ή πλάσματος πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2-8° C.
- Εάν η εξέταση δεν πραγματοποιηθεί εντός 24 ωρών, συνιστάται η φύλαξη στους -20° C.
- Αποφεύγετε τη διαδοχική κατάψυξη και απόψυξη.
- Ο ορός ή το πλάσμα (EDTA ή ηπαρίνη) παρέχουν παρόμοια αποτελέσματα.
 $y(\text{Ορός}) = 1,03x (\text{ΗΠ. πλάσμα}) + 0,07$ $r = 0,99$ $n = 30$
 $y(\text{Ορός}) = 1,00x (\text{Πλάσμα με EDTA}) - 0,47$ $r = 0,99$ $n = 30$

X. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

A. Σημειώσεις σχετικά με το χειρισμό

Μη χρησιμοποιείτε το κιτ ή τα συστατικά μετά την ημερομηνία λήξης. Μην αναμειγνύετε υλικά από διαφορετικές παρτίδες κιτ. Φέρετε όλα τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Αναμειξτε καλά όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα με απαλή ανακίνηση ή ανάδευση. Χρησιμοποιείτε ένα καθαρό αναλώσιμο ρύγχος πιπέτας για την προσθήκη κάθε διαφορετικού αντιδραστηρίου και δείγματος προκειμένου να αποφύγετε την επιμόλυνση. Η ακρίβεια βελτιώνεται με χρήση πιπετών υψηλής ακρίβειας ή αυτοματοποιημένου εξοπλισμού διανομής με πιπέτες. Τηρείτε τους χρόνους επώασης. Προετοιμάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης για κάθε ανάλυση και μη χρησιμοποιείτε δεδομένα από προηγούμενες αναλύσεις.

B. Διαδικασία

1. Σημάνετε επιστρωμένα σωληνάρια εις διπλούν για κάθε βαθμονομητή, δείγμα και ορό ελέγχου. Για τον προσδιορισμό των μετρήσεων του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total"), σημάνετε 2 κοινά (μη επιστρωμένα) σωληνάρια.
2. Αναμειξτε για λίγο (με αναμεικτή στροβιλισμού τύπου vortex) βαθμονομητές, ορούς ελέγχου και δείγματα και διανείμετε 50 μl από έκαστο σε αντίστοιχα σωληνάρια.
3. Διανείμετε 50 μl αντι-hCG+β σηματοδοτημένα με ¹²⁵I σε κάθε σωληνάριο, συμπεριλαμβανοντας τα μη επιστρωμένα σωληνάρια που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total").
4. Ανακινήστε απαλά με το χέρι τη βάση στήριξης των σωληναρίων.
5. Επώαση για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου αναδεύοντας (400 rpm). Τηρήστε με απόλυτη ακρίβεια το χρόνο επώασης.
6. Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ["total"]). Βεβαιωθείτε ότι το πλαστικό ρύγχος του αναρροφητή φθάνει στον πυθμένα του επιστρωμένου σωληναρίου προκειμένου να αφαιρεθεί όλη η ποσότητα του υγρού.
7. Πλύνετε τα σωληνάρια με 2 ml διαλύματος πλύσης εργασίας (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ["total"]) και αναρροφήστε (ή μεταγγίστε). Αποφύγετε το σχηματισμό αφρού κατά τη διάρκεια της προσθήκης του διαλύματος πλύσης εργασίας.
8. Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ["total"]).
9. Πλύνετε τα σωληνάρια και πάλι με 2 ml διαλύματος πλύσης εργασίας (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις συνολικές μετρήσεις) και αναρροφήστε (ή μεταγγίστε).
10. Μετά την τελευταία πλύση, αφήστε τα σωληνάρια σε όρθια θέση για δύο λεπτά και αναρροφήστε το υπόλοιπο υγρό.
11. Μετρήστε τα σωληνάρια σε μετρητή γ ακτινοβολίας για 60 δευτερόλεπτα.

XI. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

- Υπολογίστε τη μέση τιμή των διπλών προσδιορισμών.
- Σε ημιλογαριθμικό ή γραμμικό χαρτί γραφημάτων, παραστήστε γραφικά τις c.p.m. (κρούσεις ανά λεπτό) (τεταγμένη) για κάθε βαθμονομητή έναντι της αντίστοιχης συγκέντρωσης της hCG+β (τετηγμένη) και σχεδιάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης μέσω των σημείων του βαθμονομητή, απορρίψτε τις εμφανείς μη αποδεκτές τιμές.
- Διαβάστε τη συγκέντρωση για κάθε ορό ελέγχου και δείγμα με αναγωγή στην καμπύλη βαθμονόμησης.
- Αναγωγή δεδομένων με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή θα απλοποιήσει αυτούς τους υπολογισμούς. Εάν χρησιμοποιείται αυτόματη επεξεργασία αποτελεσμάτων, συνιστάται προσαρμογή καμπύλης λογιστικής συνάρτησης 4 παραμέτρων.

XII. ΤΥΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα ακόλουθα δεδομένα προορίζονται μόνο ως παράδειγμα και δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ποτέ αντί της καμπύλης βαθμονόμησης πραγματικού χρόνου.

hCG+β IRMA		cpm	B/T (%)
Κρούσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵ I ("total")		293692	
Βαθμονομητής			
	0,0 mIU/ml	194	0,07
	5,5 mIU/ml	1127	0,38
	16,6 mIU/ml	2496	0,85
	54,0 mIU/ml	8095	2,76
	153,0 mIU/ml	25435	8,66
	307,0 mIU/ml	49646	16,90
	585,0 mIU/ml	93037	31,68

XIII. ΑΠΟΔΟΣΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

A. Όριο ανίχνευσης

Μετρήθηκαν είκοσι μηδενικοί βαθμονομητές μαζί με ένα σύνολο άλλων βαθμονομητών.

Το όριο ανίχνευσης, οριζόμενο ως η φαινομενική συγκέντρωση δύο τυπικών αποκλίσεων πάνω από τις μέσες μετρήσεις σε μηδενική δέσμευση, ήταν 1,6 mIU/ml.

B. Ειδικότητα

Ορμόνες με διασταυρούμενη αντίδραση προστέθηκαν σε ορό με hCG+β χαμηλής τιμής και σε βαθμονομητή υψηλής τιμής (150 mIU/ml). Μετρήθηκε η φαινομενική απόκριση της hCG+β.

Προσταθείσες ορμόνες	CAL 1 Παρατηρηθείσες τιμές hCG	CAL 2 Παρατηρηθείσες τιμές hCG
-	9,8 mIU/ml	284 mIU/ml
FSH 250 mIU/ml	11,3 mIU/ml	292 mIU/ml
LH 250 mIU/ml	10,9 mIU/ml	262 mIU/ml
TSH 250 μIU/ml	10,3 mIU/ml	290 mIU/ml
ahCG 34000 fmol/ml	11,0 mIU/ml	252 mIU/ml
βhCG 1000 fmol/ml	361,0 mIU/ml	699 mIU/ml

Αυτό αποδεικνύει ότι ο προσδιορισμός hCG+β-IRMA δεν παρουσιάζει διασταυρούμενη με τις FSH, LH, TSH, ahCG και παρουσιάζει μια 100% διασταυρούμενη αντίδραση με την ελεύθερη β-αλυσίδα της hCG.

Σημείωση: Χρησιμοποιώντας τα ακόλουθα μοριακά βάρη 37,9 kDa (hCG), 23,0 kDa (βhCG) και 14,9 kDa (ahCG), τα μοριακά ισοδύναμα είναι:

- hCG : 1000 fmol = 37,9 ng - 325 mIU 1ο IRP 75/537
- βhCG : 1000 fmol = 23,0 ng
- ahCG : 1000 fmol = 14,9 ng

Γ. Ακρίβεια

ΓΙΑ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ

ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ

Ορός	N	<X> ± T.A. (mIU/ml)	Σ.Δ. (%)	Ορός	N	<X> ± T.A. (mIU/ml)	Σ.Δ. (%)
A	20	67,3 ± 1,2	1,8	C	10	35,2 ± 2,2	6,2
B	20	245,9 ± 3,0	1,2	D	10	149,6 ± 12,6	8,4

T.A.: Τυπική απόκλιση, Σ.Δ.: Συντελεστής διακύμανσης

Δ. Ορθότητα

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΡΑΙΩΣΗΣ

Δείγμα	Αραίωση	Θεωρητική συγκέντρωση (mIU/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (mIU/ml)
Ορός 1	1/1	563,6	563,6
	1/2	281,8	260,2
	1/4	140,9	126,4
	1/8	70,5	62,6
	1/16	35,2	34,1
	1/32	17,6	18,1
	1/64	8,8	8,7
	1/128	4,4	4,8

Το δείγμα αραιώθηκε με το μηδενικό βαθμονομητή.

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ

Δείγμα	Προσταθείσα hCG+β (mIU/ml)	Ανακτηθείσα hCG+β (mIU/ml)	Ανακτηθείσα (%)
Ορός 1	50,0	52,1	104
	100,0	101,7	104
	200,0	209,0	102
	400,0	417,1	104

E. Μεσοδιάστημα μεταξύ της διανομής τελευταίου βαθμονομητή και δείγματος

Όπως φαίνεται στη συνέχεια, τα αποτελέσματα του προσδιορισμού παραμένουν αξιόπιστα ακόμα και όταν διανέμεται ένα δείγμα 30 λεπτά μετά την προσθήκη του βαθμονομητή στα επιστρωμένα σωληνάρια.

ΜΕΣΟΔΙΑΣΤΗΜΑ

	0'	10'	20'	30'
Ορός 1 (mIU/ml)	31,2	31,1	30,9	31,4
Ορός 2 (mIU/ml)	144,1	142,4	140,5	143,5

ΣΤ. Φαινόμενο αγκίστρου (hook)

Ένα φαινόμενο αγκίστρου (Hook effect) μπορεί να παρατηρηθεί πάνω από 150000 mIU/ml. Δείγματα από εγκύους μπορούν να δώσουν τόσο υψηλές συγκεντρώσεις. Επομένως, συνιστάται, σε περιπτώσεις όπου θα πρέπει να ληφθεί ακριβές ποσοτικό αποτέλεσμα της συγκέντρωσης της hCG (π.χ. παρακολούθηση κύησης), να υποβάλλονται σε προσδιορισμό 3 αραιώσεις, όπως φαίνεται στο πιο κάτω διάγραμμα.

A: μη αραιωμένο

B: αραιωμένο 17x (25 μl του A + 400 μl του μηδενικού βαθμονομητή)

Γ: αραιωμένο 289x (25 μl του B + 400 μl του μηδενικού βαθμονομητή)

Τα δείγματα που προορίζονται για γενικό έλεγχο κύησης θα πρέπει υποβάλλονται σε προσδιορισμό χωρίς να αραιωθούν.

XIV. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- Δείγματα από ασθενείς που έχουν λάβει παρασκευάσματα μονοκλωνικών αντισωμάτων ποντικού για σκοπούς διάγνωσης ή θεραπείας, ενδεχομένως να περιέχουν ανθρώπινα αντισώματα αντι-ποντικού (HAMA). Σε αυτά τα δείγματα μπορούν να παρατηρηθούν ψευδώς αυξημένες ή ψευδώς μειωμένες τιμές, όταν ελέγχονται με kit προσδιορισμού που χρησιμοποιούν μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού.
- Τα ετεροφιλικά αντισώματα στον ανθρώπινο ορό μπορούν να αντιδράσουν με ανοσοσφαιρίνες των αντιδραστηρίων, προκαλώντας παρεμβολή σε in vitro ανοσοπροσδιορισμούς. Ασθενείς που εκτίθενται τακτικά σε ζώα ή προϊόντα ζωικού ορού ενδεχομένως να είναι επιρρεπείς σε αυτήν την παρεμβολή. Παθολογικές τιμές μπορούν να παρατηρηθούν σε παρουσία ετεροφιλικών αντισωμάτων. Αξιολογείτε με προσοχή τα αποτελέσματα ασθενών, στους οποίους υπάρχει υποψία αυτών των αντισωμάτων. Εάν τα αποτελέσματα δεν είναι σύμφωνα με άλλες κλινικές παρατηρήσεις, θα χρειαστεί η λήψη περαιτέρω πληροφοριών πριν από τη θέση της διάγνωσης.

XV. ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

- Εάν τα αποτελέσματα που λαμβάνονται για τον ορό ελέγχου 1 ή/και τον ορό ελέγχου 2 δε βρίσκονται εντός του πεδίου τιμών που καθορίζεται στην ετικέτα του φιαλιδίου, τα αποτελέσματα δεν είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν, εκτός εάν έχει δοθεί ικανοποιητική εξήγηση για την ασυμφωνία.
- Εάν είναι επιθυμητό, κάθε εργαστήριο μπορεί να δημιουργήσει τα δικά του μείγματα δειγμάτων ελέγχου (pools), τα οποία πρέπει να διατηρούνται κατεψυγμένα σε κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης.
- Τα κριτήρια αποδοχής για τη διαφορά μεταξύ των διπλών αποτελεσμάτων των δειγμάτων θα πρέπει να βασίζονται σε ορθές εργαστηριακές πρακτικές.

XVI. ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Οι τιμές αυτές παρέχονται μόνον ως οδηγός. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να καθιερώσει το δικό του πεδίο φυσιολογικών τιμών.

Οριακή τιμή (cut-off) κύησης:

Η οριακή τιμή (cut-off) για τον προσδιορισμό κύησης, που ορίζεται ως η φαινομενική συγκέντρωση τριών τυπικών αποκλίσεων πάνω από τη μέση τιμή μετρήσεων 96 δειγμάτων από μη έγκυες γυναίκες, ήταν 4,6 mIU/ml. Συνιστάται να επανελέγξετε δείγματα που είναι μεταξύ cut-off και 10mIU/ml.

XVII. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Ασφάλεια

Μόνο για διαγνωστική χρήση in vitro.

Το kit αυτό περιέχει το ¹²⁵I (Χρόνος ημιζωής: 60 ημέρες), μια ραδιενεργή ουσία η οποία εκπέμπει ιονίζουσα ακτινοβολία X (28 keV) και γ (35.5 keV). Αυτό το ραδιενεργό προϊόν είναι δυνατό να μεταφερθεί και να χρησιμοποιηθεί μόνο από εξουσιοδοτημένα άτομα. Η αγορά, φύλαξη, χρήση και ανταλλαγή ραδιενεργών προϊόντων υπόκεινται στη νομοθεσία της χώρας του τελικού χρήστη. Σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να χορηγείται το προϊόν σε ανθρώπους ή ζώα.

Τα συστατικά ανθρώπινου αίματος που περιλαμβάνονται στο kit αυτό έχουν ελεγχθεί με μεθόδους εγκεκριμένες στην Ευρώπη ή/και από τον FDA και έχει διαπιστωθεί ότι είναι αρνητικά ως προς την παρουσία HBsAg, αντι-HCV, αντι-HIV-1 και 2. Καμία γνωστή μέθοδος δεν είναι δυνατό να παρέχει πλήρη διασφάλιση ότι παράγωγα του ανθρώπινου αίματος δε θα μεταδώσουν ηπατίτιδα, AIDS ή άλλες λοιμώξεις. Επομένως, ο χειρισμός αντιδραστηρίων, δειγμάτων ορού ή πλάσματος θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες περί ασφάλειας.

Όλα τα ζωικά προϊόντα και παράγωγα έχουν συλλεχθεί από υγιή ζώα. Τα βόεια συστατικά προέρχονται από χώρες όπου δεν έχει αναφερθεί BSE. Παρ' όλ' αυτά, συστατικά που περιέχουν ζωικές ουσίες θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά.

Αποφύγετε οποιαδήποτε επαφή του δέρματος με αντιδραστήρια (χρησιμοποιείται αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό). Το αζίδιο στο kit αυτό ενδέχεται να αντιδράσει με μόλυβδο και χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων και να σχηματίσει με τον τρόπο αυτό ιδιαίτερα εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Κατά τη διάρκεια του βήματος πλύσης, εκπλύνετε την αποχέτευση με μεγάλη ποσότητα νερού, για την πρόληψη τυχόν συσσώρευσης αζιδίου.

Μην καπνίζετε, μην πίνετε, μην τρώτε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά στο χώρο εργασίας. Μην διανέμετε με πιπέτα χρησιμοποιώντας το στόμα σας. Χρησιμοποιείτε προστατευτικό ρουχισμό και γάντια μιας χρήσης. Όλος ο χειρισμός του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να εκτελείται σε καθορισμένο χώρο, μακριά από χώρους τακτικής διέλευσης. Στο εργαστήριο πρέπει να διατηρείται ημερολόγιο για την παραλαβή και τη φύλαξη ραδιενεργών υλικών. Εξοπλισμός και γυάλινα σκεύη του εργαστηρίου, τα οποία θα μπορούσαν να μολυνθούν με ραδιενεργές ουσίες, θα πρέπει να φυλάσσονται σε ξεχωριστό χώρο για την πρόληψη επιμόλυνσης των διαφόρων ραδιοϊσοτόπων.

Τυχόν διαρροές ραδιενεργών υγρών πρέπει να καθαρίζονται αμέσως σύμφωνα με τις διαδικασίες ασφάλειας από ραδιενέργεια. Τα ραδιενεργά απόβλητα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς και τις κατευθυντήριες οδηγίες των αρχών που έχουν δικαιοδοσία στο εργαστήριο. Η τήρηση των βασικών κανόνων ασφάλειας από ραδιενέργεια παρέχει επαρκή προστασία.

XVIII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. BRAUNSTEIN G.D., RASOR J., ADLER D., DANZER H., WADE H.E., (1976)
Serum chorionic gonadotropin levels throughout normal pregnancy.
Am. J. Obstet. Gynecol., 126:678.
2. CHEN F., SETSUKO G., YOSHIHITO F., YUTAKA T., (1987)
Radioimmunoassay of the serum free β-subunit of human chorionic gonadotropin in trophoblastic disease.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:313.

3. DAWOOD M.Y., SASCENA B.B., LANDESMAN R., (1977)
Human chorionic gonadotropin and its subunit in hydatidiform mole and choriocarcinoma.
Obstet. Gynecol., 50:172.
4. HAY D.L., (1982)
Chorionic gonadotropin.
Clin. Biochem., 3:35.
5. GASPARD V.J., REUTER A.M., DEVILLE J.L., VRINDTS-GEVAERT Y., BAGSHAW K.D., FRANCHIMONT P., (1980)
Serum concentration of human chorionic gonadotropin and its alpha and beta subunit in Trophoblastic tumours.
Clin. Endocrinol. (Oxf.), 13:219.
6. PIERCE J.G., PARSONS T.F., (1981)
Glycoprotein hormones : structure and function.
Annu. Rev. Biochem., 50:465.
7. MANCINI G. et al., (1992)
hCG, AFP and V E₃ pattern in the 14-20th weeks of Down's syndrome pregnancies.
Prenatal Diagn., 12(7):619-24.
8. WHITEHEAD N. et al., (1993)
Elevated material serum human chorionic gonadotropin increases the chance of adverse pregnancy outcome.
Am. J. Obstet. Gynecol., 169(5):1359-60.

XIX. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

	Κρούσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵ I ("total") ml	ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΕΣ ml	ΔΕΙΓΜΑ(ΤΑ) ml
Βαθμονομητές (0-5) Δείγματα Ιχνηθέτης	- - 0,05	0,05 - 0,05	- 0,05 0,05
Επώαση	30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου αναδεύοντας (400 rpm)		
Διαχωρισμός Διάλυμα πλύσης Διαχωρισμός Διάλυμα πλύσης Διαχωρισμός	- - - -	αναρρόφηση (ή μετάγγιση) 2,0 αναρρόφηση (ή μετάγγιση) 2,0 αναρρόφηση (ή μετάγγιση)	
Μέτρηση	Μετρήστε τα σωληνάρια για 60 δευτερόλεπτα		

Αρ. καταλόγου DIASource: KIP0981 – KIP0984	Αριθμός P.I.: 1700467/el	Αρ. αναθεώρησης: 110218/1
---	-----------------------------	------------------------------

ημερομηνία αναθεώρησης : 2011-02-18

Przed zastosowaniem należy przeczytać cały protokół.

hCG+ β IRMA

I. PRZEZNACZENIE

Oznaczenie immunoradiometryczne do ilościowego pomiaru ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej w surowicy i osoczu metodą *in vitro*.

Ten zestaw nie jest przeznaczony do oceny ryzyka wystąpienia trisomii 21 chromosomu.

II. INFORMACJE OGÓLNE

- A. **Nazwa firmowa:** DIAsource hCG+ β -IRMA Kit
- B. **Numer katalogowy:** KIP0981: 96 oznaczeń
KIP0984: 4 x 96 oznaczeń
- C. **Wyprodukowano przez:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgia.

Dział pomocy technicznej oraz informacje dotyczące zamówień:

Tel: +32 (0)10 84.99.11

Fax: +32 (0)10 84.99.90

III. INFORMACJE KLINICZNE

A. Aktywność biologiczna

hCG jest glikoproteiną syntetyzowaną przez syncytiotrofoblast w łożysku w czasie ciąży. hCG, o masie cząsteczkowej 37,9 kDa, składa się z dwóch podjednostek. Podjednostka alfa hCG ma masę cząsteczkową 14,9 kDa i jest chemicznie podobna do podjednostek alfa FSH, LH i TSH. Podjednostka beta, o masie cząsteczkowej 23,0 kDa, posiada podobną strukturę chemiczną do podjednostki beta LH, różniąc się jedynie kilkoma epitopami. hCG charakteryzuje się aktywnością biologiczną podobną do LH. W okresie ciąży, hCG stymuluje pozostałe ciało żółte i tkankę łożyskową do wydzielania różnych hormonów sterydowych. Oprócz działania stymulującego na tkankę ciała żółtego i łożyska, hCG, przechodząc przez barierę łożyskową odgrywa podstawową rolę w różnicowaniu płci u płodu, szczególnie w siódmym tygodniu ciąży.

B. Zastosowanie kliniczne hCG+ β - IRMA

· **Rozpoznawanie i monitorowanie ciąży**

hCG i wolne podjednostki tego hormonu alfa i beta, pojawiają się w surowicy i moczu kobiet ciężarnych około 9 dnia po owulacji. Następnie poziomy hCG gwałtownie wzrastają osiągając wartość szczytową pomiędzy ósmym a dwunastym tygodniem ciąży.

· **Marker nowotworu w guzach trofoblastycznych**

Zaśniad groniasty i kosmówczak mogą wydzielają duże ilości natywnego hCG i dwóch wolnych podjednostek alfa i beta do krążenia obwodowego.


· **Marker nowotworu w rakach nietrofoblastycznych**

Około 10 – 15 % raków sutka, płuca i układu trawiennego uwalnia hCG i /lub jedną z dwóch podjednostek alfa i beta.

IV. ZAGADNIENIA DOTYCZĄCE METODY

Test hCG+β - IRMA jest oznaczeniem immunoradiometrycznym opartym na separacji w opłaszczonych próbkach, w którym wykorzystano kilka przeciwciał monoklonalnych, skierowanych wobec różnym epitopom hCG. Mabs 1 – przeciwciała przechwytyjące – są umocowane do dolnej i wewnętrznej powierzchni plastikowej próbki. Kalibratory lub próbki, dodawane do próbek, będą na początku wykazywały niskie powinowactwo do Mabs1. Dodanie Mab2, przeciwciała sygnałowego oznakowanego ¹²⁵I zakończy etap i wyzwoli reakcję immunologiczną. Po przepłukaniu, stopień radioaktywności związanej z próbka odzwierciedla stężenie antygeny.

V. DOSTARCZONE ODCZYNNIKI

Odczynniki	Ilość 96 oznaczeń	Ilość 4 x 96 oznaczeń	Kolor	Rekonstrukcja
 Probówki opłaszczone przeciwciałami anti-hCG+β (przeciwciała monoklonalne)	2 x 48	8 x 48	szary	Gotowe do zastosowania
<div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px;">Ab</div> <div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px; margin-left: 10px;">¹²⁵I</div> Przeciwciała (monoklonalne) anti- hCG+β oznakowane Jodem ¹²⁵ w buforze TRIS zawierającym bydlęcą albuminę surowiczą, azydek (<0,1 %) i czerwony barwnik	1 fiołka 5,5 ml 450 kBq	4 fiołek 5,5 ml 450 kBq	czerwony	Gotowe do zastosowania
<div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px;">CAL</div> <div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px; margin-left: 10px;">N</div> Kalibratory 1 - 6 w surowicy bydlęcej z tymolem (dokładne wartości na etykietach fiołek)	6 fiołek liofil.	2 x 6 fiołek liofil.	żółty	Dodać 0,5 ml wody destylowanej
<div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px;">CAL</div> <div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px; margin-left: 10px;">0</div> Kalibratory 0 w surowicy bydlęcej z azydek (0,5 %)	3 fiołek 10 ml	8 fiołek 10 ml	żółty	Gotowe do zastosowania
<div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px;">WASH</div> <div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px; margin-left: 10px;">SOLN</div> <div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px; margin-left: 10px;">CONC</div> Roztwór płuczący (TRIS-HCl)	1 fiołka 10 ml	3 fiołek 10 ml	brązowy	Rozcieńczyć 70x wodą destylowaną (wykorzystać mieszadło magnetyczne).
<div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px;">CONTROL</div> <div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px; margin-left: 10px;">N</div> Kontrole 1 i 2 w surowicy pochodzenia ludzkiego z tymolem	2 fiołek liofil.	2 x 2 fiołek liofil.	srebrny	Dodać 0,5 ml wody destylowanej

Nota: Można również wykorzystać zawartość kalibratora zerowego do rozcieńczeń próbek
1 mIU preparatu kalibratora jest równoważne do 1 mIU z 4th IS 75/589

VI. MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE

Poniższe materiały są wymagane, ale nie są dostarczone w zestawie:

1. Woda destylowana
2. Pipety do dostarczania objętości: 50 μl i 500 μl (zaleca się stosowanie właściwych pipet z jednorazowymi końcówkami plastikowymi)
3. Strzykawka automatyczna o objętości 5 ml (rodzaj Cornwall) do płukania
4. Układ do aspiracji (opcjonalnie)
5. Mieszadło wirowe
6. Mieszadło magnetyczne
7. Wyrząsarka próbek (400 obr/min)
8. Może być wykorzystywany jakikolwiek licznik gamma odpowiedni do pomiaru ¹²⁵I (minimalny uzysk 70%).

VII. PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

- A. **Kalibratory 1-6:** Rozpuścić kalibratory przy pomocy 0,5 ml wody destylowanej.
- B. **Kontrola:** Kontrole należy rekonstruować przy pomocy 0,5 ml wody destylowanej.
- C. **Roboczy roztwór płuczający:** Właściwą objętość roboczego roztworu płuczającego należy przygotować dodając 69 objętości wody destylowanej do 1 objętości roztworu płuczającego (70x). Do homogenizacji należy wykorzystać mieszadło magnetyczne. Niewykorzystany roboczy roztwór płuczający należy wylać pod koniec dnia.

VIII. PRZECHOWYWANIE I DATA WAŻNOŚCI ODCZYNNIKÓW

- Przed otwarciem lub rekonstrukcją wszystkie składniki zestawu zachowują trwałość do daty ważności przedstawionej na etykiecie, jeżeli są przechowywane w temperaturze od 2 do 8°C.
- Po rozpuszczeniu, kalibratory i kontrole zachowują stabilność w temperaturze 2-8°C przez 7 dni.
W razie konieczności dłuższego przechowywania, niewielkie objętości powinny być przechowywane w temperaturze -20°C przez maksymalnie 3 miesiące. Unikać cykli rozmrażania i zamrażania.
- Świeżo przygotowany roboczy roztwór płuczający powinien być wykorzystany w tym samym dniu.
- Po jego pierwszym zastosowaniu, znacznik izotopowy zachowuje trwałość do podanej daty ważności jeżeli jest przechowywany w oryginalnej, dobrze zamkniętej fiołce w temperaturze od 2 do 8°C.
- Zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników w zestawie mogą wskazywać na ich niestabilność lub zużycie.

IX. POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE MATERIAŁU DO BADANIA

- Próbkę surowicy lub osocza muszą być przechowywane w temperaturze 2-8°C.
- Jeżeli oznaczenie nie jest wykonywane w ciągu 24 godzin, zaleca się przechowywanie w temperaturze -20°C.
- Unikać powtarzanych cykli zamrażania i rozmrażania.
- Surowica i osocze heparynizowane, bądź zawierające EDTA, pozwalają na uzyskanie podobnych wyników.

$$Y(\text{surowica}) = 1,03 \times (\text{osocze hep.}) + 0,07 \quad r = 0,99 \quad n = 30$$

$$Y(\text{surowica}) = 1,00 \times (\text{osocze z EDTA}) - 0,47 \quad r = 0,99 \quad n = 30$$

X. PROCEDURA

A. Uwagi dotyczące obsługi

Nie wolno wykorzystywać składników zestawu po upływie daty ważności. Nie wolno mieszać materiałów pochodzących z różnych serii zestawów. Przed wykorzystaniem wszystkie odczynniki powinny osiągnąć temperaturę pokojową. Wszystkie odczynniki i próbki należy dokładnie wymieszać przez delikatne potrząsanie lub obracanie. Aby uniknąć zanieczyszczenia krzyżowego do dodawania poszczególnych odczynników i próbek należy wykorzystywać czyste, jednorazowe końcówki pipet. Pipety wysokiej precyzji lub pipety automatyczne poprawiają precyzję wykonania oznaczenia. Przestrzegać czasów inkubacji. Przygotować krzywą kalibracyjną dla każdego cyklu pomiarowego, nie wolno wykorzystywać danych z poprzednich oznaczeń.

B. Procedura

1. Dla każdego kalibratora, kontroli, próbki należy oznaczyć opłaszczone próbki w badaniach podwójnych. Do oznaczenia aktywności całkowitej należy oznaczyć dwie plastikowe próbki.
2. Szybko wymieszać wirując: kalibratory, próbki i kontrole, i dozować po 50 μl każdej substancji do odpowiednich próbek.
3. Dodać 50 μl anti-hCG+β-¹²⁵I (znacznik izotopowy) do wszystkich próbek w tym do nieopłaszczonych próbek do całkowitego zliczania.
4. Delikatnie potrząsać (ręcznie) stojak z próbkami, aby uwolnić wszelkie, uwięzione pęcherzyki powietrza.
5. Inkubować przez 30 minut w temperaturze pokojowej na mieszadle wirowym (400 obrotów/min). **Dokładnie przestrzegać czasów inkubacji.**
6. Aspirować (lub odlać) zawartość każdej próbki (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania). Aby usunąć cały płyn należy upewnić się, że plastikowa końcówka aspiratora osiągnęła dno opłaszczonej próbki.
7. Przepłukać próbki przy pomocy 2 ml roboczego roztworu płuczającego (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania). W trakcie dodawania roboczego roztworu płuczającego należy unikać wytwarzania piany.
8. Aspirować (lub odlać) zawartość każdej próbki (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania).
9. Ponownie przepłukać próbki przy pomocy 2 ml roztworu płuczającego (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania) i aspirować (lub odlać).
10. Po ostatnim płukaniu, pozostawić próbki w pozycji stojącej do góry na dwie minuty i aspirować pozostałe krople płynu.
11. Zliczać próbki w liczniku gamma przez 60 sekund.

XI. OBLICZANIE WYNIKÓW

1. Obliczyć średnią oznaczeń podwójnych.
2. Na papierze milimetrycznym lub w kratkę wykreślić c.p.m. (rzędna) dla każdego kalibratora wobec odpowiadającego stężenia hCG+β (odcietą) oraz wykreślić krzywą kalibracji przez punkty kalibratora, odrzucając oczywiste wartości odbiegające od linii środkowej.
3. Odczytać stężenie dla każdej kontroli i próbki przez naniesienie na krzywą kalibracyjną.
4. Redukcja danych przy pomocy komputera pozwoli uprościć te obliczenia. Jeżeli ma być zastosowane automatyczne przetwarzanie wyników, zaleca się dopasowanie krzywej logistycznej 4 parametrowej.

XII. PRZYKŁAD DANYCH TYPOWYCH

Poniższe dane są przedstawione wyłącznie w celach przykładowych i nie powinny być nigdy stosowane zamiast rzeczywistych krzywych kalibracyjnych.

hCG+β-IRMA	cpm	B/T (%)
Zliczanie całkowite	293692	
Kalibrator		
0,0 mIU/ml	194	0,07
5,5 mIU/ml	1127	0,38
16,6 mIU/ml	2496	0,85
54,0 mIU/ml	8095	2,76
153,0 mIU/ml	25435	8,66
307,0 mIU/ml	49646	16,90
585,0 mIU/ml	93037	31,68

XIII. DZIAŁANIE I OGRANICZENIA

A. Granica wykrywania

Dwadzieścia kalibratorów zerowych oznaczano wraz z zestawem innych kalibratorów. Wrażliwość, zdefiniowana jako odmiennie stężenie dwóch odchyli standardowych powyżej przeciętnej wartości zliczania przy wiązaniu zerowym kształtowała się na poziomie 1,6 mIU/ml.

B. Swoistość

Hormony reagujące krzyżowo były dodane do kalibratora niskich i wysokich (150 mIU/ml) poziomów hCG+β. Oznaczano przybliżoną odpowiedź hCG+β.

Dodany hormon	CAL 1 Obserwowane wartości hCG	CAL 2 Obserwowane wartości hCG
-	9,8 mIU/ml	284 mIU/ml
FSH 250 mIU/ml	11,3 mIU/ml	292 mIU/ml
LH 250 mIU/ml	10,9 mIU/ml	262 mIU/ml
TSH 250 μIU/ml	10,3 mIU/ml	290 mIU/ml
αhCG 34000 fmol/ml	11,0 mIU/ml	252 mIU/ml
βhCG 1000 fmol/ml	361,0 mIU/ml	699 mIU/ml

Na tej podstawie można uznać, że hCG+β-IRMA nie reaguje krzyżowo z FSH, LH, TSH, αhCG i przejawia 100 % reaktywności krzyżowej w stosunku do wolnych łańcuchów beta hCG.

Nota: Wykorzystując masy cząsteczkowe 37,9 kDa (hCG), 23,0 kDa (βhCG) i 14,9 kDa (αhCG), równoważniki molowe są następujące:

- hCG : 1000 fmol = 37,9 ng - 325 mIU 1st IRP 75/537
- βhCG : 1000 fmol = 23,0 ng
- αhCG : 1000 fmol = 14,9 ng

C. Precyzja

W SERII				POMIĘDZY SERIAMI			
Surowica	N	X ± S.D. (mIU/ml)	CV %	Surowica	N	X ± S.D. (mIU/ml)	CV %
A	20	67,3 ± 1,2	1,8	C	10	35,2 ± 2,2	6,2
B	20	245,9 ± 3,0	1,2	D	10	149,6 ± 12,6	8,4

D. Dokładność

BADANIE ODZYSKU

Próbka	hCG dodana (mIU/ml)	hCG odzyskany (mIU/ml)	Odzysk (%)
Surowica 1	50,0	52,1	104
	100,0	101,7	104
	200,0	209,0	102
	400,0	417,1	104

BADANIE ROZCIĘCZENIA

Próbka	Rozcieńczenie	Stęż. teoretyczne (mIU/ml)	Stęż. zmierzone (mIU/ml)
Surowica 1	1/1	563,6	563,6
	1/2	281,8	260,2
	1/4	140,9	126,4
	1/8	70,5	62,6
	1/16	35,2	34,1
	1/32	17,6	18,1
	1/64	8,8	8,7
	1/128	4,4	4,8

Próbki zostały rozcieńczone przy pomocy kalibratora zerowego

E. Opóźnienie pomiędzy oznaczeniem ostatniego kalibratora i dozowaniem próbki

Jak wykazano, wyniki pomiaru pozostają dokładne nawet wówczas, gdy od momentu dodania kalibratora do opłaszczonych próbek minęło 30 minut.

OPÓZNIENIE

	0'	10'	20'	30'
Surowica 1 (mIU/ml)	31,2	31,1	30,9	31,4
Surowica 2 (mIU/ml)	144,1	142,4	140,5	143,5

F. Efekt hook'a

Efekt hook'a może być obserwowany ponad 150000 mIU/ml. Próbki pochodzące od kobiet ciężarnych mogą przejawiać tak wysokie stężenia. Dlatego zaleca się, aby w sytuacjach, kiedy należy uzyskać dokładny wynik ilościowy stężenia hCG (np. w obserwacji ciąży), oznaczać trzy rozcieńczenia jak wskazano na poniższym schemacie.

- A: nierozcieńczony
- B: rozcieńczony 17x (25 μl z A + 400 μl kalibratora zerowego)
- C: rozcieńczony 289x (25 μl z B + 400 μl kalibratora zerowego)

W badaniu przesiewowym pod kątem ciąży nie powinno się rozcieńczać próbek.

XIV. OGRANICZENIA

- Próbki od pacjentów, którzy w celach diagnostycznych lub terapeutycznych otrzymywali preparaty z mysich przeciwciał monoklonalnych, mogą zawierać ludzkie przeciwciała anty-mysie (HAMA). Próbki takie, oznaczane z użyciem zestawów testowych wykorzystujących mysie przeciwciała monoklonalne, mogą wykazywać wartości fałszywie zawyżone lub zaniżone.
- Przeciwciała heterofilne w ludzkiej surowicy mogą reagować z immunoglobulinami odczynnika, interferując z oznaczeniami immunologicznymi przeprowadzanymi in vitro. Pacjenci rutynowo ekspozowani na zwierzęta lub produkty z surowic zwierzęcych mogą wykazywać skłonność do takich interferencji i w razie obecności przeciwciał heterofilnych występować mogą u nich nieprawidłowe wyniki testów. Wyniki oznaczeń próbek od pacjentów z takimi przeciwciałami należy interpretować z ostrożnością. Jeżeli wyniki nie są zgodne z obserwacjami klinicznymi, przed postawieniem rozpoznania powinny być uzyskane dodatkowe informacje.

XV. WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI

- Jeżeli wyniki uzyskane dla kontroli 1 i/lub 2 nie znajdują się w zakresie określonym na etykiecie fiołki, wyniki nie mogą zostać wykorzystane dopóki nie uda się znaleźć właściwego wyjaśnienia tego odchylenia.
- Jeżeli to konieczne, każde laboratorium może wykonać własne próbki zbiorcze w celach kontrolnych, które powinny być zamrożone w małych objętościach. Nie wolno zamrażać i rozmrażać więcej niż dwukrotnie. Nie wolno rozmrażać i zamrażać częściej niż dwukrotnie.
- Dopuszczalne kryteria dotyczące różnicy pomiędzy wynikami oznaczeń podwójnych próbek powinny być zgodne z zasadami prawidłowej pracy w laboratorium.

XVI. ZAKRESY REFERENCYJNE

Wartości przedstawione poniżej mają wyłącznie cel orientacyjny; każde laboratorium powinno opracować własne zakresy norm.

Wartość odcięcia dla ciąży:

Wartość odcięcia dla określenia ciąży, zdefiniowana jako przybliżone stężenie trzech odchyleń standardowych ponad średnim poziomem zliczeń 97 próbek pochodzących od kobiet nieciążarnych, wynosiła 4,6 mIU/ml.

Zaleca się powtórne oznaczenie próbek o wartościach pomiędzy wartością odcięcia i 10 mIU/ml.

XVII. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

Bezpieczeństwo

Tylko do diagnostyki *in vitro*.

Zestaw zawiera ¹²⁵I (Okres połowicznego rozpadu: 60 dni), emitujący promieniowanie jonizujące X (28 keV) i γ (35,5 keV).

Ten produkt radioaktywny może być transportowany i wykorzystany wyłącznie przez osoby autoryzowane; zakup, przechowywanie, stosowanie i wymiana produktów radioaktywnych podlega regulacjom prawnym kraju użytkownika końcowego. W żadnym wypadku produkt nie może być podawany ludziom lub zwierzętom.

Obsługa materiałów radioaktywnych powinno być przeprowadzana w miejscach do tego przeznaczonych, z dala od miejsc ogólnej użyteczności. W laboratorium musi być przechowywany rejestr przyjęć i przechowywania materiałów radioaktywnych. Wyposażenie laboratorium oraz szkło, które może być skażone substancjami radioaktywnymi powinno być oddzielone w celu uniknięcia krzyżowego zanieczyszczenia różnych radioizotopów.

Wszelkie płyny z substancji radioaktywnych muszą być natychmiast oczyszczone zgodnie z procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa radiologicznego. Odpady radioaktywne muszą być usuwane zgodnie z miejscowymi przepisami i ogólnie przyjętymi wytycznymi obowiązującymi w laboratorium. Przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa radiologicznego zapewnia wystarczające zabezpieczenie.

Składniki zawierające ludzką krew, dostarczone w zestawie, zostały przebadane metodami zaaprobowanymi przez instytucje europejskie i/lub FDA. Stwierdzono, że nie zawierają one HbsAg, przeciwciał anti-HCV, anti-HIV-1 i 2. Żadna ze znanych metod nie może dać całkowitej pewności że materiały pochodzenia ludzkiego nie przeniosą czynników zakaźnych wirusowego zapalenia wątroby, AIDS i innych. Dlatego postępowanie z odczynnikami i próbkami surowicy lub osocza powinno być zgodne z miejscowymi procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa.

Produkty pochodzenia zwierzęcego były pobierane od zdrowych zwierząt. Składniki bydłace pochodzą z krajów, w których nie odnotowano występowania BSE. Pomimo to, składniki zawierające substancje pochodzenia zwierzęcego powinny być traktowane jako potencjalnie zakaźne.

Unikać kontaktu skóry z odczynnikami (zawierają azydek sodowy jako środek konserwujący). Azydek znajdujący się w zestawie może reagować z miedzią i ołowiem w układzie kanalizacyjnym tworząc związki o właściwościach wybuchowych. W czasie płukania odprowadzany płyn należy płukać dużymi objętościami wody, aby zapobiec kumulacji azydków.

Nie wolno palić, spożywać napojów ani pokarmów, bądź używać kosmetyków w miejscu pracy. Nie pipetować ustami. Zakładać ubranie ochronne i rękawiczki jednorazowe.

XVIII. BIBLIOGRAFIA

- BRAUNSTEIN G.D., RASOR J., ADLER D., DANZER H., WADE H.E., (1976)
Serum chorionic gonadotropin levels throughout normal pregnancy.
Am. J. Obstet. Gynecol., 126:678.
- CHEN F., SETSUKO G., YOSHIHITO F., YUTAKA T., (1987)
Radioimmunoassay of the serum free β-subunit of human chorionic gonadotropin in trophoblastic disease.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:313.
- DAWOOD M.Y., SASCENA B.B., LANDESMAN R., (1977)
Human chorionic gonadotropin and its subunit in hydatidiform mole and choriocarcinoma.
Obstet. Gynecol., 50:172.
- HAY D.L., (1982)
Chorionic gonadotropin.
Clin. Biochem., 3:35.
- GASPARD V.J., REUTER A.M., DEVILLE J.L., VRINDTS-GEVAERT Y., BAGSHAW K.D., FRANCHIMONT P., (1980)
Serum concentration of human chorionic gonadotropin and its alpha and beta subunit II Trophoblastic tumours.
Clin. Endocrinol. (Oxf.), 13:219.
- PIERCE J.G., PARSONS T.F., (1981)
Glycoprotein hormones : structure and function.
Annu. Rev. Biochem., 50:465.







- MANCINI G. et al., (1992)
hCG, AFP and V E₃ pattern in the 14-20th weeks of Down's syndrome pregnancies.
Prenatal Diagnost., 12(7):619-24.
- WHITEHEAD N. et al., (1993)
Elevated material serum human chorionic gonadotropin increases the chance of adverse pregnancy outcome.
Am. J. Obstet. Gynecol., 169(5):1359-60.

XIX. PODSUMOWANIE PROTOKOŁU

	CAŁKOWITA LICZBA ZLICZEŃ ml	KALIBRATORY ml	PRÓBK(A) ml
Kalibratory (0-5)	-	0,05	-
Próbki	-	-	0,05
Znacznik izotopowy	0,05	0,05	0,05
Inkubacja	30 minut w temperaturze pokojowej z wytrząsaniem 400 rpm		
Rozdzielenie	-	aspiracja (lub odlewanie)	
Roztwór płuczający	-	2,0	
Rozdzielenie	-	aspiracja (lub odlewanie)	
Roztwór płuczający	-	2,0	
Rozdzielenie	-	aspiracja (lub odlewanie)	
Zliczanie	Zliczanie probówek przez 60 sekund		

Nr katalogowy DIASource KIP0981 – KIP0984	Numer P.I. 1700467/pl	Nr aktualizacji : 110218/1
--	--------------------------	-------------------------------

Data wydania : 2011-02-18

	Used symbols
	Consult instructions for use
	Storage temperature
	Use by
LOT	Batch code
REF	Catalogue number
CONTROL	Control
IVD	In vitro diagnostic medical device
	Manufacturer
	Contains sufficient for <n> tests
WASH SOLN CONC	Wash solution concentrated
CAL 0	Zero calibrator
CAL N	Calibrator #
CONTROL N	Control #
Ag 1251	Tracer
Ab 1251	Tracer
Ag 1251 CONC	Tracer concentrated
Ab 1251 CONC	Tracer concentrated
	Tubes
INC BUF	Incubation buffer
ACETONITRILE	Acetonitrile
SERUM	Serum
DIL SPE	Specimen diluent
DIL BUF	Dilution buffer
ANTISERUM	Antiserum
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbent
DIL CAL	Calibrator diluent
REC SOLN	Reconstitution solution
PEG	Polyethylene glycol
EXTR SOLN	Extraction solution
ELU SOLN	Elution solution
GEL	Bond Elut Silica cartridges
PRE SOLN	Pre-treatment solution
NEUTR SOLN	Neutralization solution
TRACEUR BUF	Tracer buffer
µP	Microtiterplate
Ab HRP	HRP Conjugate
Ag HRP	HRP Conjugate
Ab HRP CONC	HRP Conjugate concentrate
Ag HRP CONC	HRP Conjugate concentrate
CONJ BUF	Conjugate buffer
CHROM TMB CONC	Chromogenic TMB concentrate
CHROM TMB	Chromogenic TMB solution
SUB BUF	Substrate buffer
STOP SOLN	Stop solution
INC SER	Incubation serum
BUF	Buffer
Ab AP	AP Conjugate
SUB PNPP	Substrate PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotin conjugate concentrate
AVID HRP CONC	Avidine HRP concentrate
ASS BUF	Assay buffer
Ab BIOT	Biotin conjugate
Ab	Specific Antibody
SAV HRP CONC	Streptavidin HRP concentrate
NSB	Non-specific binding
2nd Ab	2nd Antibody
ACID BUF	Acidification Buffer
DIST	Distributor

	<u>Symboles utilisés</u>
	Consulter les instructions d'utilisation
	Température de conservation
	Utiliser jusqu'à
LOT	Numéro de lot
REF	Référence de catalogue
CONTROL	Contrôle
I V D	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Fabricant
	Contenu suffisant pour <n> tests
WASH SOLN CONC	Solution de lavage concentrée
CAL 0	Calibrateur zéro
CAL N	Calibrateur #
CONTROL N	Contrôle #
Ag 125I	Traceur
Ab 125I	Traceur
Ag 125I CONC	Traceur concentré
Ab 125I CONC	Traceur concentré
	Tubes
INC BUF	Tampon d'incubation
ACETONITRILE	Acétonitrile
SERUM	Sérum
DIL SPE	Diluant du spécimen
DIL BUF	Tampon de dilution
ANTISERUM	Antisérum
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbant
DIL CAL	Diluant de calibrateur
REC SOLN	Solution de reconstitution
PEG	Glycol Polyéthylène
EXTR SOLN	Solution d'extraction
ELU SOLN	Solution d'élution
GEL	Cartouches Bond Elut Silica
PRE SOLN	Solution de pré-traitement
NEUTR SOLN	Solution de neutralisation
TRACEUR BUF	Tampon traceur
TIT	Microplaque de titration
Ab HRP	HRP Conjugué
Ag HRP	HRP Conjugué
Ab HRP CONC	HRP Conjugué concentré
Ag HRP CONC	HRP Conjugué concentré
CONJ BUF	Tampon conjugué
CHROM TMB CONC	Chromogène TMB concentré
CHROM TMB	Solution chromogène TMB
SUB BUF	Tampon substrat
STOP SOLN	Solution d'arrêt
INC SER	Sérum d'incubation
BUF	Tampon
Ab AP	AP Conjugué
SUB PNPP	Tampon PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotine conjugué concentré
AVID HRP CONC	Avidine HRP concentré
ASS BUF	Tampon de test
Ab BIOT	Biotine conjugué
Ab	Anticorps spécifique
SAV HRP CONC	Concentré streptavidine HRP
NSB	Liant non spécifique
2nd Ab	Second anticorps
ACID BUF	Tampon d'acidification

	<u>Gebrauchte Symbolen</u>
	Gebrauchsanweisung beachten
	Lagern bei
	Verwendbar bis
LOT	Chargenbezeichnung
REF	Bestellnummer
CONTROL	Kontrolle
I V D	In Vitro Diagnostikum
	Hersteller
	Ausreichend für <n> Ansätze
WASH SOLN CONC	Waschlösung-Konzentrat
CAL 0	Null kalibrator
CAL N	Kalibrator #
CONTROL N	Kontrolle #
Ag 125I	Tracer
Ab 125I	Tracer
Ag 125I CONC	Tracer Konzentrat
Ab 125I CONC	Tracer Konzentrat
	Röhrchen
INC BUF	Inkubationspuffer
ACETONITRILE	Azetonitril
SERUM	Humanserum
DIL SPE	Probenverdünner
DIL BUF	Verdünnungspuffer
ANTISERUM	Antiserum
IMMUNOADSORBENT	Immunadsorbens
DIL CAL	Kalibratorverdünnung
REC SOLN	Rekonstitutionslösung
PEG	Polyethylenglykol
EXTR SOLN	Extraktionslösung
ELU SOLN	Eluierungslösung
GEL	Bond Elut Silikakartuschen
PRE SOLN	Vorbehandlungslösung
NEUTR SOLN	Neutralisierungslösung
TRACEUR BUF	Tracer-Puffer
U U	Mikrotiterplatte
Ab HRP	HRP Konjugat
Ag HRP	HRP Konjugat
Ab HRP CONC	HRP Konjugat Konzentrat
Ag HRP CONC	HRP Konjugat Konzentrat
CONJ BUF	Konjugatpuffer
CHROM TMB CONC	Chromogenes TMB Konzentrat
CHROM TMB	Farblösung TMB
SUB BUF	Substratpuffer
STOP SOLN	Stopplösung
INC SER	Inkubationsserum
BUF	Puffer
Ab AP	AP Konjugat
SUB PNPP	Substrat PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotin-Konjugat-Konzentrat
AVID HRP CONC	Avidin-HRP-Konzentrat
ASS BUF	Assaypuffer
Ab BIOT	Biotin-Konjugat
Ab	Spezifischer Antikörper
SAV HRP CONC	HRP Streptavidinkonzentrat
NSB	Unspezifische Bindung
2nd Ab	Sekundärer Antikörper
ACID BUF	Ansäuerungspuffer

	<u>Gebruikte symbolen</u>
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing
	Bewaartemperatuur
	Houdbaar tot
LOT	Lotnummer
REF	Catalogusnummer
CONTROL	Controle
I V D	Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek
	Fabrikant
	Inhoud voldoende voor <n> testen
WASH SOLN CONC	Wasoplossing, geconcentreerd
CAL 0	Nulkalibrator
CAL N	Kalibrator #
CONTROL N	Controle #
Ag 125I	Tracer
Ab 125I	Tracer
Ag 125I CONC	Tracer geconcentreerd
Ab 125I CONC	Tracer geconcentreerd
	Buisjes
INC BUF	Incubatiebuffer
ACETONITRILE	Acetonitrile
SERUM	Serum
DIL SPE	Specimen diluent
DIL BUF	Verdunningsbuffer
ANTISERUM	Antiserum
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbent
DIL CAL	Kalibratorverdunner
REC SOLN	Reconstitutieplossing
PEG	Polyethyleen glycol
EXTR SOLN	Extractieplossing
ELU SOLN	Elutieoplossing
GEL	Bond Elut Silica kolom
PRE SOLN	Pre-behandelingsoplossing
NEUTR SOLN	Neutralisatieoplossing
TRACEUR BUF	Tracerbuffer
TIT	Microtiterplaat
Ab HRP	HRP Conjugaat
Ag HRP	HRP Conjugaat
Ab HRP CONC	HRP Conjugaat geconcentreerd
Ag HRP CONC	HRP Conjugaat geconcentreerd
CONJ BUF	Conjugaat buffer
CHROM TMB CONC	Chromogene TMB geconcentreerd
CHROM TMB	Chromogene Oplossing TMB
SUB BUF	Substraatbuffer
STOP SOLN	Stopoplossing
INC SER	Incubatieserum
BUF	Buffer
Ab AP	AP Conjugaat
SUB PNPP	Substraat PNPP
BIOT CONJ CONC	Geconcentreerd Biotine conjugaat
AVID HRP CONC	Geconcentreerd Avidine-HRP conjugaat
ASS BUF	Assay buffer
Ab BIOT	Biotine conjugaat
Ab	Specifiek antilichaam
SAV HRP CONC	Streptavidine-HRP concentraat
NSB	Aspecifieke binding
2nd Ab	2de antilichaam
ACID BUF	Verzuringbuffer

	<u>Επεξήγηση συμβόλων</u>
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Θερμοκρασία αποθήκευσης
	Ημερομηνία λήξης
LOT	Αριθμός παρτίδας
REF	Αριθμός καταλόγου
CONTROL	Πρότυπο ελέγχου
I V D	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Κατασκευαστής
	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις
WASH SOLN CONC	Συμπυκνωμένο διάλυμα έκπλυσης
CAL 0	Μηδενικός βαθμονομητής
CAL N	Βαθμονομητής #
CONTROL N	Ορός ελέγχου #
Ag 125I	Ιχνηθέτης
Ab 125I	Ιχνηθέτης
Ag 125I CONC	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης
Ab 125I CONC	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης
	Σωληνάρια
INC BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης
ACETONITRILE	Ακετονιτρίλιο
SERUM	Ορός
DIL SPE	Διάλυμα αραιώσεως δειγμάτων
DIL BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσεως
ANTISERUM	Αντιορός
IMMUNOADSORBENT	Ανοσοπροσροφητικό
DIL CAL	Αραιωτικό βαθμονομητών
REC SOLN	Διάλυμα ανασύστασης
PEG	Πολυαιθυλενογλυκόλη
EXTR SOLN	Διάλυμα εκχύλισης
ELU SOLN	Διάλυμα έκλυσης
GEL	Φύσιγγες πυριτίου Bond Elut
PRE SOLN	Διάλυμα προεπεξεργασίας
NEUTR SOLN	Διάλυμα εξουδετέρωσης
TRACEUR BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα
TLT	Πλάκα μικροτιτλοδότησης
Ab HRP	HRP Σύζευγμα
Ag HRP	HRP Σύζευγμα
Ab HRP CONC	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα
Ag HRP CONC	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα
CONJ BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα συζεύγματος
CHROM TMB CONC	Χρωμογόνος TMB
CHROM TMB	Διάλυμα χρωμογόνου TMB
SUB BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
STOP SOLN	Ανασχετικό αντιδραστήριο
INC SER	Ορός επώασης
BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα
Ab AP	AP Σύζευγμα
SUB PNPP	PNPP υποστρώματος
BIOT CONJ CONC	Συμπυκνωμένο αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη
AVID HRP CONC	Συμπυκνωμένο διάλυμα αβιδίνης-HRP
ASS BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού
Ab BIOT	αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη
Ab	Ειδικό Αντίσωμα
SAV HRP CONC	Συμπυκνωμένη στρεπταβιδίνη συνεξευγμένη με HRP
NSB	μη-ειδική δέσμευση
2nd Ab	2ο Αντίσωμα
ACID BUF	Ρυθμιστικό Διάλυμα όξινο

	<u>Stosowane symbole</u>
	Przed zastosowaniem zapoznać się z instrukcją
	Temperatura przechowywania
	Zużyć przed
LOT	Kod serii
REF	Numer katalogowy
CONTROL	Kontrola
I V D	Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro
	Producent
	Zawartość wystarczająca do <n> testów
WASH SOLN CONC	Roztwór płuczący stężony
CAL 0	Kalibrator zerowy
CAL N	Kalibrator nr
CONTROL N	Kontrola nr
Ag 125I	Znacznik izotopowy
Ab 125I	Znacznik izotopowy
Ag 125I CONC	Znacznik izotopowy stężony
Ab 125I CONC	Znacznik izotopowy stężony
	Probówki
INC BUF	Wymagana inkubacja buforu
ACETONITRILE	Acetonitryl
SERUM	Surowica
DIL SPE	Rozcieńczalnik próbki
DIL BUF	Bufor do rozcieńczania
ANTISERUM	Antysurowica
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbent
DIL CAL	Rozcieńczalnik kalibratora
REC SOLN	Roztwór do rozcieńczania
PEG	Glikol poli(oksy)etylenowy
EXTR SOLN	Roztwór ekstrakcyjny
ELU SOLN	Roztwór elucyjny
GEL	Kolumny krzemionkowe Bond Elut
PRE SOLN	Roztwór do przygotowania wstępnego
NEUTR SOLN	Roztwór neutralizujący
TRACEUR BUF	Bufor znacznika
TUF	mikropłytki
Ab HRP	Koniugat peroksydazy chrzanowej
Ag HRP	Koniugat peroksydazy chrzanowej
Ab HRP CONC	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej
Ag HRP CONC	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej
CONJ BUF	Bufor do koniugacji
CHROM TMB CONC	Koncentrat chromogenu TMB (czterometylobenzydyny)
CHROM TMB	Roztwór chromogenu TMB (czterometylobenzydyny)
SUB BUF	Bufor substratu
STOP SOLN	Roztwór zatrzymujący reakcję
INC SER	Wymagana inkubacja surowicy
BUF	Bufor
Ab AP	Koniugat AP (fosfatazy alkalicznej)
SUB PNPP	p-nitrofenylofosforan substratowy
BIOT CONJ CONC	Koncentrat koniugatu biotyny
AVID HRP CONC	Koncentrat peroksydazy chrzanowej z awidyną
ASS BUF	Bufor do oznaczania
Ab BIOT	Koniugatu biotyny
Ab	Przeciwciało swoiste
SAV HRP CONC	Koncentrat streptawidyny HRP
NSB	Wiązanie nieswoiste
2nd Ab	Drugie przeciwciało
ACID BUF	Bufor zakwaszający