



11-DESOXYCORTISOL- RIA-CT

KIPI20000

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

LOT : 110228/1



11-DESOXYCORTISOL-RIA-CT

Radioimmunoassay for the Quantitative Determination of
11- Desoxycortisol (11-DOC) in Human serum

KIPI20000

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

en

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax : +32 10 84 99 90

1. INTENDED USE :

The 11-Desoxycortisol (Compound S) is an intermediate steroid in the glucocorticoids biosynthesis. Precursor of the cortisol, it comes from 17-hydroxyprogesterone after action of the 11 beta hydroxylase. This parameter is interesting for the diagnosis and follow up of treatment in case of surrenal enzymatic deficiency in 11 beta hydroxylase which is responsible for congenital surrenal hyperplasia in children and hyperandrogenics in adult women

Under hypothalamic-pituitary control via the Adrenocorticotrophic hormone (ACTH), the secretion of 11-Desoxycortisol follows a nycthemeral variation: it reaches a maximum in the morning (around 8 a.m.) and a minimal during the night (between 0 to 4 a.m.)

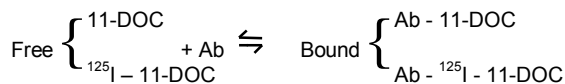
The measure of the 11-Desoxycortisol can be performed in serum using immunological competition methods (RIA).

The metopyrone inhibits the 11 beta hydroxylase and the conversion of the 11-Desoxycortisol in cortisol.

The metopyrone test is an indicator of the ACTH reserve.

2. PRINCIPLE OF THE METHOD :

The 11-Desoxycortisol RIA obeys the law of mass action according to the following equation :



Since the concentrations of ${}^{125}\text{I} - 11\text{-DOC}$ and coated antibodies are constant, the advancing state of the equation depends on the concentration of 11-DOC. The amount of ${}^{125}\text{I} - 11\text{-DOC}$ bound to the coated tube is inversely proportional to the concentration of 11 DOC in the sample.

Following the incubation, the tube is aspirated to remove excess unbound ${}^{125}\text{I}$ labelled 11-DOC.

Patient sample concentrations are read from a calibration curve.

3. MATERIAL PROVIDED AND STORAGE :

Stored at 2 - 8°C, the material can be used up to the expiration date printed on each label.

3.1.

--

2 x 48 Polystyrene tubes (12 x 75 mm)

coated with anti-11 Doc polyclonal antibodies.

Systematically, allow the coated tubes to reach room temperature before use. Store at 2-8°C.

3.2.

Ag	${}^{125}\text{I}$
----	--------------------

 ${}^{125}\text{I} - 11\text{ DOC E analog tracer}$ (yellow, 52 mL) :

1 bottle, containing < 5 μCi (185 kBq) of ${}^{125}\text{I}$ -labelled 11 DOC analog in protein-based buffer containing < 0.1% NaN_3 as a preservative. Store at 2-8°C.

3.3.

CAL	N
-----	---

11-DOC Calibrators

5 vials, 0.5 ml each, containing 0.3, 1.5, 5, 20 and 65 ng/ml 11-DOC calibrators in human serum with < 0.1% sodium azide as a preservative. Store at 2-8°C. Can be used up to the expiration date printed on each label.

3.4.

CAL	0
-----	---

11-DOC Zero Calibrator

One vial, 1 ml, containing 0 ng/ml 11-DOC zero calibrator in human serum with < 0.1% sodium azide as a preservative. Store at 2-8°C. Can be used up to the expiration date printed on the label.

3.5.

CONTROL	N
---------	---

Control 1 - 2

2 vials, lyophilised, 0.5 ml each, level I and level II containing low and high 11-DOC levels in human and horse serum with < 0.1% sodium azide as a preservative.

Store at 2-8°C. Can be used up to the expiration date printed on each label.

Before use, reconstitute the contents of the controls with 0.5 ml of distilled water.

3.6.

WASH	SOLN	CONC
------	------	------

Concentrated Wash Buffer

1 bottle concentrated buffered solution containing sodium azide (NaN_3 < 0.1 %). Poor the solution in 700 ml of distilled water.

Note: Conversion factor: 1 ng/ml = 2.886 nmol/L

1 nmol/L = 0.3465 ng/ml

4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED :

- bench surfaces protected by absorbent paper to reduce the effects of radioactive spillage.
- waste disposal containers appropriately labelled and designed as suitable for solid or liquid radioactive materials.
- manual or automated precision micropipettes for dispensing samples or reagents without cross-contamination.
- absorbent paper.
- vacuum pump connected through a trap for aspiration.
- water bath
- a gamma scintillation counter.
- appropriate graph paper for plotting the results.

5. METHODOLOGY

5.1. Collection and handling of blood samples :

The blood sample may be collected into a dry tube.

After separation from the red blood cells, serum samples may be assayed immediately, within 24 hours if stored at 2 - 8°C, or later, after period up to several months if stored at -20°C. Repeating freezing and thawing must be avoided.

For samples from children of less than 2 years old, the 11-Desoxycortisol must be assayed immediately after an extraction step.

5.2. Assay procedure :

Reagents stored at 2° - 8° C. must be brought at room temperature prior to use. Do not mix reagents of different lots. Label the tubes for T (« Total Counts » do not use coated tubes) calibrators, samples and control sera.

Perform the assay in duplicate. Calibrators, controls and samples must be assayed at the same time.

1. Calibration curve:

Pipette 25 μl of each calibrator into the corresponding tubes.

2. Unknowns and control sera:

Pipette 25 μl of each sample or control sera into the corresponding tubes.

3. Add 500 μl of ${}^{125}\text{I} - 11\text{-DOC}$ tracer to each tube.

4. Vortex, cover and incubates 2.5 hours at $37 \pm 2^\circ\text{C}$.

5. Carefully aspirate or decant (before decanting, add 2 ml of washing solution to each tube.) the solution of all tubes. (Except total counts tubes).

6. Add 2 ml of washing solution to each tube. Aspirate or decant carefully.

7. Count the radioactivity fixed in each tube for at least 60 seconds.

Data processing :

Determine the mean count rate for each set of duplicate tubes.

Calculate the ratio B/B0 as follows :

$$B/B0 \% = [\text{CAL or Sample cpm} / B0 (\text{CAL } 0) \text{ cpm}] \times 100$$

Draw the calibration curve on semilogarithmic paper by plotting the ratio B/B0 % (linear scale) obtained for each calibrator versus its respective concentration expressed in ng/ml (logarithmic scale). 11-DOC concentrations in samples may be read directly from the calibration curve. If a computer is used to calculate the results, the data can be fitted to the appropriate equation : spline smoothed.

5.3. Example of a typical assay:

	Content (ng/ml)	cpm 1st duplicate	cpm 2nd duplicate	Mean cpm	B/Bo (%)	11-DOC (ng/ml)
Total counts	-	63015	62510	62762	-	-
CAL 0	0	31865	31445	31655	100	
CAL 1	0.3	27429	28004	27711	87.6	
CAL 2	1.5	20079	19803	19941	62.9	
CAL 3	5	13246	13152	13199	41.7	
CAL 4	20	6369	6509	6439	20.3	
CAL 5	65	3464	3480	3472	11	
C ₁ Low	-	22977	22569	22773	72	1
C ₂ High	-	13711	13699	13705	43.3	4.5
Sample	-	4172	4242	4214	13.3	45.2

Example of a typical assay, do not use for calculations

6. PERFORMANCE CHARACTERISTICS:

6.1. Specificity

Steroid	% Cross-reactivity
11-desoxycortisol	100
17 α Hydroxyprogesterone	5.6
Desoxycorticosterone	0.46
Progesterone	0.59
Cortisol	0.09
Estradiol-17 β	0.03
Androstenedione, Corticosterone, Dexamethasone, Cortisone, Testosterone, DHEA-S, Aldosterone	N.D.

6.2. Minimum detectable concentration of 11-DOC

The minimum detectable concentration has been assayed at 0.11 ng/ml and corresponds to the concentration given by two standards deviations below the mean cpm of 20 replicate determinations of the zero calibrators.

6.3. Recovery test:

When sera of known 11-DOC contents have their 11-DOC supplemented by addition of 11-DOC in equal volumes (1/1), a satisfactory correlation between theoretical and assayed 11-DOC is obtained.

Added 11-DOC (ng/ml) (1:1 in serum sample)	1.5	5	20	65
Theoretical (ng/ml)	0.85	2.6	10.1	32.6
Assayed 11-DOC (ng/ml)	0.70	2.5	10.2	30.2
% recovery	82.4	96.2	101	92.6

6.4. Dilution test :

The dilution test indicates that there is immunological identity between the 11-DOC present in the sample and the 11-DOC used to calibrate the test.

Dilution Factor	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Assayed 11-DOC (ng/ml)	40.1	18.4	9.8	4.7	2.5	1.1	0.6
Expected 11-DOC (ng/ml)	-	20.05	10	5	2.5	1.25	0.63
% Recovery	-	92	98	94	100	88	96

6.5. Reproducibility:

	Within assay variation 5 replicates		Between assay variation 8 replicates	
	Mean (ng/mL)	% CV	Mean (ng/mL)	% CV
Pool 1	1.1	6.2	1.95	8.7
Pool 2	3.7	5.2	5.48	11.5
Pool 3	28.3	7.7	36.85	15.1

7. LIMITATION OF THE PROCEDURE

- The results obtained from this or any other diagnostic kit should be used and interpreted only in the context of an overall clinical picture.
- Do not use lipemic, haemolyzed, icteric or turbid specimens.

8. EXPECTED VALUES

Without Stimulation : < 7.2 ng/ml

After Stimulation with Metopyrone : 72 – 225 ng/ml

9. WARNING AND PRECAUTION

For in vitro diagnostic use only

Safety

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 logbook 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 radiation safety 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 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.

Revision date : 2011-02-28



11-DESOXYCORTISOL-RIA-CT

Pour la détermination quantitative du
11-désoxycortisol (11-DOC) dans le sérum humain

KIPI20000

fr

À UTILISER UNIQUEMENT POUR LE DIAGNOSTIC IN VITRO

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax : +32 10 84 99 90

1. UTILISATION:

Le 11-désoxycortisol (composé S) est un stéroïde intermédiaire de la biosynthèse des glucocorticoides. Précurseur du cortisol, il est produit par l'action de la 11 bêta hydroxylase sur la 17-hydroxyprogestérone. Ce paramètre est intéressant dans le diagnostic et le suivi du traitement de la déficience enzymatique surrénale en 11 bêta hydroxylase, déficience qui est responsable de l'hyperplasie surrénale congénitale chez l'enfant et de l'hyperandrogénie chez la femme adulte.

L'axe hypothalamo-hypophysaire contrôle la sécrétion du 11-désoxycortisol par l'intermédiaire de l'ACTH. La sécrétion du 11-désoxycortisol présente une variation nyctémérale: elle atteint un maximum le matin (aux environs de 8 heures) et un minimum au cours de la nuit (entre 0 et 4 heures du matin).

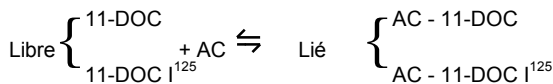
Des méthodes de compétition immunologiques (RIA) permettent de doser le 11-désoxycortisol dans le sérum.

La métopyrone inhibe la 11 bêta hydroxylase et la conversion du 11-désoxycortisol en cortisol.

Le test à la métopyrone est un indicateur de la réserve en ACTH.

2. PRINCIPE DE LA METHODE:

Le RIA pour le dosage du 11-désoxycortisol obéit à la loi de l'action de masse selon l'équation suivante :



Les concentrations en 11-DOC ^{I125} et en anticorps fixés au tube étant constantes, l'équilibre de l'équation dépend de la concentration en 11-DOC. La quantité de 11-DOC ^{I125} lié au tube tapissé d'anticorps est inversement proportionnelle à la concentration en 11-DOC de l'échantillon.

Après l'incubation, le tube est aspiré afin de retirer l'excès du 11-DOC marqué à l'^{I125} non lié.

Les concentrations des échantillons du patient sont lues sur une courbe de calibration.

3. MATÉRIEL FOURNI ET CONSERVATION:

Conservé à 2 – 8°C, le matériel peut être utilisé jusqu'à la date d'expiration inscrite sur chaque étiquette.

3.1.

--

2 x 48 tubes en polypropylène (12 x 75 mm) tapissés d'anticorps polyclonaux anti-11-DOC.

Systématiquement, permettre aux tubes tapissés d'anticorps d'atteindre la température ambiante avant utilisation. Conserver entre 2 et 8°C.

3.2.

Ag	¹²⁵ I
----	------------------

traceur E analogue du 11-DOC ^{I125} (jaune, 52 mL):

1 flacon contenant < μCi (185 kBq) d'analogue du 11-DOC marqué à l'^{I125} dans un tampon protéique contenant < 0.1% NaN₃ comme agent de conservation. Conserver entre 2 et 8°C.

3.3.

CAL	N
-----	---

calibrateurs 11-DOC

5 fioles de 0,5 ml chacune, contenant 0,3, 1,5, 5, 20 et 65 ng/ml de 11-DOC dans du sérum humain avec < 0,1% d'azoture de sodium comme agent de conservation. Conserver entre 2 et 8°C. Peuvent être utilisés jusqu'à la date d'expiration imprimée sur les étiquettes.

3.4.

CAL	0
-----	---

calibrateur zéro 11-DOC

Une fiole de 1ml contenant 0 ng/ml de 11-DOC dans du sérum humain avec < 0,1% d'azoture de sodium comme agent de conservation. Conserver entre 2 et 8°C. Peut être utilisé jusqu'à la date d'expiration imprimée sur l'étiquette.

3.5.

CONTROL	N
---------	---

Contrôles 1 – 2

2 fioles de 0,5 ml chacune, lyophilisées, niveau I et niveau II contenant des concentrations en 11-DOC faible et élevée dans du sérum humain et de cheval avec < 0,1% d'azoture de sodium comme agent de conservation.

Conservez entre 2 et 8°C. Peut être utilisé jusqu'à la date d'expiration imprimée sur les étiquettes.

Avant utilisation, reconstituer le contenu des contrôles avec 0,5 mol d'eau distillée.

3.6.

WASH	SOLN	CONC
------	------	------

Tampon de lavage concentré

1 flacon de solution concentrée et tamponnée contenant de l'azoture de sodium (NaN₃ < 0,1 %). Mettre en solution dans 700 ml d'eau distillée.

Note: Facteur de conversion: 1 ng/ml = 2.886 nmol/L
1 nmol/L = 0.3465 ng/ml

4. MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI:

- Les surfaces de travail doivent être protégées par du papier absorbant afin de réduire les effets des émanations radioactives.
- Conteneurs à déchets, correctement étiquetés et approprié pour recevoir du matériel radioactif liquide ou solide.
- Micropipettes de précision soit manuelles soit automatiques pour préparer, sans contamination, les échantillons et les réactifs.
- Papier absorbant.
- Pompe à vide connectée à une trappe pour l'aspiration.
- Bain-marie
- Compteur à scintillation gamma.
- Papier graphique approprié pour calculer les résultats.

5. MÉTHODOLOGIE:

5.1. Collecte et préparation des échantillons de sang:

L'échantillon de sang peut être collecté dans un tube sec.

Après la séparation des globules rouges, les échantillons de sérum peuvent être analysés immédiatement, dans les 24 heures s'ils sont conservés à 2 – 8°C ou, plus tard, après une période pouvant aller jusqu'à plusieurs mois, s'ils sont conservés à –20°C. Les congélations et décongélations répétées doivent être évitées.

Pour les échantillons d'enfants de moins de 2 ans, le 11-désoxycortisol doit être analysé immédiatement après l'étape d'extraction.

5.2. Procédure d'analyse:

Les réactifs conservés à 2°- 8° C. doivent atteindre la température ambiante avant toute utilisation. Il ne faut jamais mélanger les réactifs provenant de différents lots. Étiqueter les tubes pour les T (« Total Counts », ne pas utiliser de tubes tapissés d'anticorps), les calibrateurs, les échantillons et les sérums de contrôle.

Réaliser les analyses en double. Les calibrateurs, les contrôles et les échantillons doivent être analysés en même temps.

1. Courbe de calibration:

Pipeter 25 μl de chaque calibrateur dans les tubes correspondants.

2. Échantillons et contrôles:

Pipeter 25 µl de chaque échantillon ou contrôle dans les tubes correspondants.

3. Ajouter 500 µl du traceur 11-DOC I¹²⁵ à chacun des tubes.
4. Mélanger au vortex, couvrir et incuber 2,5 heures à 37 ± 2°C.
5. Aspirer soigneusement ou décanter la solution de tous les tubes. (à l'exception des tubes "Total Counts"), (avant de décanter, ajouter 2 ml de solution de lavage dans chaque tube).
6. Ajouter 2 ml de solution de lavage dans chaque tube. Aspirer ou décanter soigneusement.
7. Compter pendant au moins 60 secondes la radioactivité fixée dans chacun des tubes.

6.3. Test de récupération:

On obtient une corrélation satisfaisante entre les 11-DOC théorique et analysé lorsque l'on enrichit des sérums ayant des concentrations en 11-DOC connues en ajoutant une quantité égale de 11-DOC (1/1).

11-DOC ajouté (ng/ml) (1:1 dans un échantillon de sérum)	1.5	5	20	65
Théorique (ng/ml)	0.85	2.6	10.1	32.6
Analysé 11-DOC (ng/ml)	0.70	2.5	10.2	30.2
% de récupération	82.4	96.2	101	92.6

5.3. Traitement des données:

Déterminer la moyenne pour chaque série de tubes.
Calculer le rapport B/B0 de la manière suivante :

$$B/B0 \% = [\text{CAL ou échantillon cpm} / B0 (\text{CAL } 0) \text{ cpm}] \times 100$$

Dessiner la courbe de calibration sur du papier semi-logarithmique en traçant le rapport B/B0 % (échelle linéaire) obtenu pour chaque calibrateur versus sa concentration respective exprimée en ng/ml (échelle logarithmique). Les concentrations en 11-DOC peuvent être lues directement à partir de la courbe de calibration.

Si un ordinateur est utilisé pour calculer les résultats, les données peuvent être ajustées par l'équation appropriée: 4 PL pondéré.

5.4. Exemple d'une courbe typique:

	Contenu (ng/ml)	cpm 1er duplicate	cpm 2d duplicate	Moyenne cpm	B/Bo (%)	11-DOC (ng/ml)
Activité totale	-	63015	62510	62762	-	-
CAL 0	0	31865	31445	31655	100	
CAL 1	0,3	27429	28004	27711	87,6	
CAL 2	1,5	20079	19803	19941	62,9	
CAL 3	5	13246	13152	13199	41,7	
CAL 4	20	6369	6509	6439	20,3	
CAL 5	65	3464	3480	3472	11	
C ₁ faible	-	22977	22569	22773	72	1
C ₂ élevé	-	13711	13699	13705	43,3	4,5
Échantillon	-	4172	4242	4214	13,3	45,2

Exemple d'une estimation typique, à ne pas utiliser pour les calculs

6. CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE:

6.1. Spécificité

Stéroïde	% réactions croisées
11-désoxycortisol	100
17α hydroxyprogestérone	5,6
Désoxycorticostérone	0,46
Progestérone	0,59
Cortisol	0,09
Œstradiol-17 β	0,03
Androsténedione, Corticostérone, Dexaméthasone, Cortisone, Testostérone, DHEA-S, Aldostérone	N.D.

6.2. Concentration minimale détectable de 11-DOC

La concentration minimale détectable est estimée à 0,11 ng/ml et correspond à la concentration donnée par 2 écarts-types en dessous de la moyenne cpm de 20 déterminations répliquées du calibrateur 0.

6.4. Test de dilution :

Le test de dilution indique qu'il y a identité immunologique entre le 11-DOC présent dans l'échantillon et le 11-DOC utilisé pour calibrer l'analyse.

Facteur de dilution	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Analysé 11-DOC (ng/ml)	40.1	18.4	9.8	4.7	2.5	1.1	0.6
Attendu 11-DOC (ng/ml)	-	20.05	10	5	2.5	1.25	0.63
% de récupération	-	92	98	94	100	88	96

6.5. Reproductibilité:

	Variation intra-essai 5 analyses		Variation inter-essai 8 analyses	
	Moyenne (ng/mL)	% CV	Moyenne (ng/mL)	% CV
Pool 1	1,1	6,2	1,95	8,7
Pool 2	3,7	5,2	5,48	11,5
Pool 3	28,3	7,7	36,85	15,1

7. LIMITATION DE LA PROCEDURE

- Les résultats obtenus à partir de ceci ou de toute autre trousse de diagnostic devraient être utilisés et interprétés seulement dans le contexte d'une image clinique globale.
- Ne pas utiliser d'échantillons lipémiques, hémolysés, ictériques ou troubles.

8. VALEURS ATTENDUES

Sans stimulation : < 7,2 ng/ml

Après stimulation à la métopryone : 72 – 225 ng/ml

9. DANGERS ET PRECAUTIONS

À utiliser uniquement pour le diagnostic *in vitro*

Sécurité

Uniquement pour une utilisation en diagnostic *in vitro*.

Cette trousse contient de I¹²⁵ (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 cette trousse 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'azoture de sodium est nocif s'il est inhalé, avalé ou entre en contact avec la peau (l'azoture de sodium est utilisé comme agent conservateur). L'azoture 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.

Date de révision: 2011-02-28



11-DESOXYCORTISOL-RIA-CT

Radioimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von
11-Desoxicortisol (11-DOC) in Humanserum

KIPI20000

NUR ZUR VERWENDUNG IN DER IN VITRO DIAGNOSE

de

DIASource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax: +32 10 84 99 90

1. VERWENDUNGSZWECK:

11-Desoxicortisol (Verbindung S) stellt ein intermediäres Steroid bei der Glukokortikoidbiosynthese dar. Die biologische Vorstufe des Cortisols entstammt der Reaktion von 17-Hydroxiprogesteron mit 11 Beta-Hydroxylase. Dieser Parameter ist für die Diagnose und die Behandlungsnachverfolgung bei enzymatischem Mangel der Nebennieren an 11 beta Hydroxylase wichtig, welcher für kongenitale Nebennierenhyperplasie bei Kindern und Hyperandrogenie bei erwachsenen Frauen verantwortlich ist.

Durch die angeborene Kontrolle des Hypothalamus gegen das adenocorticotrophe Hormon (ACTH) erfolgt die Sekretion von 11-Desoxicortisol in einem Tag-Nacht Rhythmus : es erreicht ein Maximum am Morgen (gegen 8Uhr) und ein Minimum während der Nacht (zwischen 0 und 4 Uhr).

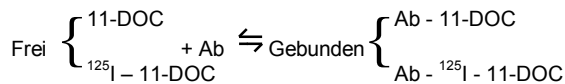
Die Messung von 11-Desoxicortisol kann im Serum durch immunologische Konkurrenzmethoden (RIA) bestimmt werden.

Das Metopyron inhibiert die 11 beta Hydroxylase und die Umwandlung von 11-Desoxicortisol in Hydrocortison.

Der Metopyrontest ist ein Indikator der ACTH-Reserve.

2. TESTPRINZIP:

Der 11-Desoxicortisol RIA unterliegt dem Gesetz der Massenwirkung nach der folgenden Gleichung:



Da die Konzentrationen an ${}^{125}\text{I} - 11\text{-DOC}$ und beschichteten Antikörpern konstant sind, hängt der Fortgang der Gleichung von der Konzentration von 11-DOC ab. Die Menge an ${}^{125}\text{I} - 11\text{-DOC}$, die an die beschichteten Röhrchen gebunden ist, ist umgekehrt proportional zur 11-DOC-Konzentration in der Probe.

Nach der Inkubation wird das Röhrchen aspiriert, um Überschüsse an nicht gebundenem markiertem 11-DOC zu entfernen.

Die Konzentrationen der Patientenproben werden aus einer Standardkurve abgelesen.


3. MITGELIEFERTES MATERIAL UND LAGERUNG:

Bei Lagerung bei 2 - 8°C kann das Material bis zum Verfallsdatum verwendet werden, das auf jedes Etikett gedruckt ist.

3.1.  2 x 48 Polypropylenröhrchen (12 x 75 mm)

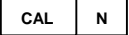
beschichtet mit polyklonalen Anti-11 DOC Antikörpern.

Vor Gebrauch müssen die beschichteten Röhrchen Raumtemperatur erreicht haben. Aufbewahren bei 2-8° C.

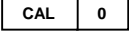
3.2.  ${}^{125}\text{I} - 11\text{-DOC E}$ analoger Tracer

(Gelb, 52 mL)

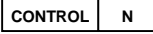
1 Flasche, enthält <5 µCi (185 kBq) ${}^{125}\text{I}$ markiertes 11-DOC in proteinhaltigem Puffer mit <0,1% NaN_3 als Konservierungsstoff. Dieses Reagenz sollte bei 2-8°C aufbewahrt werden.

3.3.  11-DOC Kalibratoren

5 Fläschchen à 0,5 ml, enthalten 0,3, 1,5, 5, 20 und 65 ng/ml 11-DOC Kalibratoren in humanem Serum mit < 0,1% Natriumazid als Konservierungsstoff. Dieses Reagenz sollte bei 2-8°C aufbewahrt werden und ist bis zum Verfallsdatum auf den Etiketten haltbar.

3.4.  11-DOC Null Kalibrator

Ein Fläschchen, 1ml, enthält 0 ng/ml 11-DOC Null Kalibrator in humanem Serum mit < 0,1 % Natriumazid als Konservierungsstoff. Dieses Reagenz sollte bei 2-8°C aufbewahrt werden und ist bis zum Verfallsdatum auf dem Etikett haltbar.

3.5.  Kontrolle 1 – 2

2 Fläschchen, lyophilisiert, jedes 0,5 ml, Stufe I und Stufe II enthalten niedrige und hohe Konzentrationen von 11-DOC in humanem und Pferdeserum mit < 0,1 % Natriumazid als Konservierungsstoff.

Diese Reagenzien sollten bei 2-8°C aufbewahrt werden und sind bis zum Verfallsdatum auf den Etiketten haltbar.

Vor dem Gebrauch müssen die Inhalte der Kontrollen mit 0,5 ml destilliertem Wasser rekonstituiert werden.

3.6.  Konzentrierter Waschpuffer

1Flasche konzentrierte Pufferlösung mit Natriumazid (NaN_3 < 0,1%). Lösung in 700 ml destilliertes Wasser gießen.

Achtung: Umwandlungsfaktor: 1 ng/ml = 2.886 nmol/L

1 nmol/L = 0.3465 ng/ml

4. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL (NICHT MITGELIEFERT):

- Schutz für Arbeitstischoberflächen durch Saugpapier, um die Wirkung verschütteter radioaktiver Substanzen zu reduzieren.
- Geeignet gekennzeichnete Abfallbehälter für feste oder flüssige radioaktive Materialien.
- Manuelle oder automatisierte Präzisions-Mikropipetten zum Pipettieren von Proben oder Reagenzien ohne Kreuzkontamination.
- Saugpapier.
- Vakuumpumpe, verbunden über eine Falle, zum Absaugen.
- Wasserbad.
- Gammazintillationszähler.
- Geeignetes Millimeterpapier zum Auftragen der Resultate.

5. METHODIK:

5.1. Gewinnung und Handhabung von Blutproben:

Die Blutprobe kann in ein trockenes Röhrchen eingebracht werden.

Nach der Trennung von den roten Blutkörperchen können Serumproben sofort getestet werden, bei Lagerung bei 2 - 8°C innerhalb von 24 Stunden oder bei Lagerung bei -20°C noch später, nach einem Zeitraum von bis zu mehreren Monaten. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden.

Bei Kindern unter 2 Jahren müssen die Proben sofort nach der Extraktion auf 11-Desoxicortisol getestet werden.

5.2. Testdurchführung:

Bei 2 - 8°C gelagerte Reagenzien müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht werden. Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen nicht vermischen. Röhrchen für T („Total Counts – Gesamt“ keine beschichteten Röhrchen verwenden), Kalibratoren, Proben und Kontrollen beschriften.

Assay doppelt ausführen. Kalibratoren, Kontrollen und Proben müssen zugleich getestet werden.

1. Kalibratorkurve:

25 µl jedes Kalibrators in die entsprechenden Röhrchen pipettieren.

2. Unbekannte und Kontrollseren:

25 µl jeder Probe oder jedes Kontrollserums in die entsprechenden Röhrchen pipettieren.

3. Geben Sie 500 µl ¹²⁵I – 11-DOC radioaktiven Tracer zu jedem Röhrchen
4. Vortexen, abdecken und inkubieren: 2,5 Stunden bei 37 ± 2 °C
5. Die Lösung aus allen Röhrchen (außer Röhrchen T) vorsichtig absaugen oder dekantieren (vor dem Dekantieren 2 ml Waschlösung in jedes Röhrchen zupipettieren).
6. 2 ml Waschlösung in jedes Röhrchen zupipettieren. Sorgfältig absaugen oder dekantieren.
7. In jedem Röhrchen fixierte Radioaktivität mindestens 60 Sekunden zählen.

5.3. Datenverarbeitung:

Mittlere Zählrate für jedes Röhrchenpaar bestimmen.
Verhältnis B/B0 folgendermaßen bestimmen:

$$B/B0 \% = [\text{Cal oder Probe cpm} / B0 (\text{Cal } 0) \text{ cpm}] \times 100$$

Kalibratorkurve auf semilogarithmisches Papier zeichnen, indem das für jeden Kalibrator erhaltene Verhältnis B/B0 % (linear) gegenüber seiner jeweiligen in ng/ml ausgedrückten Konzentration (logarithmisch) aufgetragen wird. 11-DOC-Konzentrationen in den Proben können direkt aus der Kalibratorkurve abgelesen werden.

Wenn zur Berechnung der Resultate ein Computer verwendet wird, können die Daten in die geeignete Gleichung eingebracht werden: „Smoothed Spline“.

5.4. Beispiel eines typischen Assay:

	Inhalt (ng/ml)	cpm 1st Duplikat	cpm 2nd Duplikat	Mittlere cpm	B/Bo (%)	11-DOC (ng/ml)
Gesamt	-	63015	62510	62762	-	-
CAL 0	0	31865	31445	31655	100	
CAL 1	0,3	27429	28004	27711	87,6	
CAL 2	1,5	20079	19803	19941	62,9	
CAL 3	5	13246	13152	13199	41,7	
CAL 4	20	6369	6509	6439	20,3	
CAL 5	65	3464	3480	3472	11	
C 1 niedrig	-	22977	22569	22773	72	1
C 2 hoch	-	13711	13699	13705	43,3	4,5
Probe	-	4172	4242	4214	13,3	45,2

Beispiel eines typischen Assay, nicht für Berechnungen verwenden

6. LEISTUNGSMERKMALE:

6.1. Spezifität

Steroid	% Kreuzreaktivität
11-Desoxicortisol	100
17α Hydroxyprogesteron	5,6
Desoxicorticosteron	0,46
Progesteron	0,59
Cortisol	0,09
Östradiol-17 β	0,03
Androstenedion, Corticosteron, Dexamethason, Cortison, Testosteron, DHEA-S, Aldosteron	N.D.

6.2. Untere Nachweisgrenze von 11-DOC

Die untere Nachweisgrenze beträgt 0,11 ng/ml und entspricht der Konzentration von zwei Standardabweichungen unter dem cpm-Mittelwert von 20 Replikationsbestimmungen der Nullkalibrator.

6.3. Wiederfindungstest:

Werden Seren mit bekanntem 11-DOC Gehalt durch Zugabe von gleichen Volumina (1/1) 11-DOC supplementiert, wird eine zufriedenstellende Korrelation zwischen theoretischen und gemessenen 11-DOC Werten beobachtet.

Zugefügtes 11-DOC (ng/ml) (1:1 in der Serumprobe)	1,5	5	20	65
Theoretisch (ng/ml)	0,85	2,6	10,1	32,6
Gemessenes 11-DOC (ng/ml)	0,70	2,5	10,2	30,2
% Wiederfindung	82,4	96,2	101	92,6

6.4. Verdünnungstest:

Der Verdünnungstest belegt, dass eine immunologische Gleichheit zwischen dem in der Probe vorhandenem 11-DOC und dem 11-DOC besteht welches im Test zur Kalibration benutzt wird.

Verdünnungsfaktor	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Gemessen 11-DOC (ng/ml)	40,1	18,4	9,8	4,7	2,5	1,1	0,6
Erwartet 11-DOC (ng/ml)	-	20,05	10	5	2,5	1,25	0,63
% Wiederfindung	-	92	98	94	100	88	96

6.3. Vergleichspräzision:

	Inter-Assay-Variation 5 Wiederholungen		Intra-Assay-Variation 8 Wiederholungen	
	Mittelwert (ng/mL)	% CV	Mittelwert (ng/mL)	% CV
Pool 1	1,1	6,2	1,95	8,7
Pool 2	3,7	5,2	5,48	11,5
Pool 3	28,3	7,7	36,85	15,1

7. GRENZEN DES VERFAHRENS

- Die durch diesen oder jeden anderen diagnostischen Testkit erhaltenen Resultate sollten nur im Kontext eines klinischen Gesamtbildes verwendet und interpretiert werden.
- Keine lipämischen, hämolytischen, ikterischen oder getrübbten Proben verwenden.

8. ERWARTETE WERTE

Ohne Stimulation : < 7.2 ng/ml

Nach Stimulation mit Metopyron : 72 – 225 ng/ml

9. VORSICHTSMASSNAHMEN UND WARNUNGEN

Nur zur Verwendung in der IN VITRO DIAGNOSE

Sicherheit

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 ausgesondert 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 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 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 potentiell ansteckend behandelt 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 oder wenden Sie Kosmetika nicht in Ihrem Arbeitsbereich an. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Tragen Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

Revisionsdatum : 2011-02-28



11-DESOXYCORTISOL-RIA-CT

Radioinmunoensayo para la determinación cuantitativa de
11- Desoxicortisol (11-DOC) en Suero Humano
KIPI20000

es

PARA USO SOLO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax: +32 10 84 99 90

1. USO :

El 11-Desoxicortisol (Compuesto S) es un esteroide intermedio en la biosíntesis de los glucocorticoides. Es precursor del cortisol, y proviene de la 17-hidroxiprogesterona después de haber sido transformado por la 11 beta hidroxilasa. Este parámetro es de interés para el diagnóstico y el monitoreo del tratamiento en caso de deficiencia enzimática suprarrenal de 11 beta hidroxilasa que produce la hiperplasia suprarrenal congénita en niños e hiperandrogenia en mujeres adultas

Bajo el control del hipotálamo-pituitaria y a través de la hormona Adenocorticotrópica (ACTH), la secreción de 11-Desoxicortisol sigue una variación nictemeral: alcanza su máximo punto en la mañana (alrededor de las 8 a.m.) y su mínimo durante la noche (entre las 0 y las 4 a.m.)

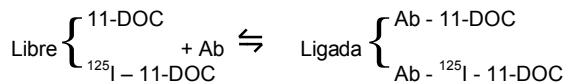
La medición del 11-Desoxicortisol puede realizarse en suero utilizando métodos inmunológicos competitivos (RIA).

La metopirona inhibe a la 11 beta hidroxilasa y la transformación de 11-Desoxicortisol a cortisol.

La prueba de metopirona es un indicador de las reservas de ACTH.

2. PRINCIPIOS DEL MÉTODO:

El RIA de 11-Desoxicortisol obedece a la ley de la acción de masa según la siguiente ecuación :




Debido a que las concentraciones del ${}^{125}\text{I} - 11\text{-DOC}$ y de los anticuerpos recubiertos son constantes, el desarrollo de la ecuación depende de la concentración de 11-DOC. La cantidad de ${}^{125}\text{I} - 11\text{-DOC}$ ligada al tubo recubierto es inversamente proporcional a la concentración de 11-DOC en la muestra.

Después de la incubación, el tubo es aspirado para remover el 11-DOC no ligado restante.

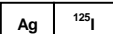
Las concentraciones de las muestras de los pacientes se leen desde una curva de calibración.

3. MATERIAL SUMINISTRADO Y ALMACENAMIENTO:

Almacenado entre 2 - 8°C, el material puede ser utilizado hasta la fecha de caducidad indicada en cada etiqueta.


3.1.  **2 x 48 tubos de polipropileno** (12 x 75 mm) recubiertos con anticuerpos policlonales anti-11-DOC.

Siempre permita que los tubos recubiertos alcancen temperatura ambiente antes de su empleo. Almacenar entre 2-8°C.


3.2.  **${}^{125}\text{I} - 11\text{ DOC}$ trazador análogo E**

(amarillo, 52 mL) :


1 botella que contiene < 5 μCi (185 kBq) de ${}^{125}\text{I}$ -etiquetado 11 DOC tampón análogo con base proteica que contiene < 0.1% NaN_3 como preservativo. Almacenar entre 2-8°C.

3.3.  **11-DOC Calibradores**

5 viales, cada uno de 0.5 ml, que contienen 0.3, 1.5, 5, 20 y 65 ng/ml de calibradores 11-DOC en suero humano con < 0.1% de azida de sodio como preservativo. Almacenar entre 2-8°C. Pueden ser utilizados hasta la fecha de caducidad impresa en cada etiqueta..

3.4.  **11-DOC Calibrador Cero**

Un vial de 1 ml, que contiene 0 ng/ml 11-DOC calibrador cero en suero humano con < 0.1% de azida de sodio como preservativo. Almacenar entre 2-8°C. Puede ser utilizado hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta.

3.5.  **Control 1 - 2**

2 viales, liofilizados cada uno de 0.5, nivel I y nivel II que contienen niveles altos y bajos de 11-DOC en suero humano y de caballo con < 0.1% de azida de sodio como preservativo.

Almacenar entre 2-8°C. Puede ser utilizado hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta.

Antes de usar, reconstituya el contenido de los controles con 0.5 ml de agua destilada.

3.6.  **Tampón Concentrado para Lavado**

1 vial de tampón de lavado concentrado que contiene NaN_3 < 0.1 %. Trasvasar la solución a 700 ml de agua destilada.

Nota: Factor de conversión: 1 ng/ml = 2.886 nmol/L
1 nmol/L = 0.3465 ng/ml

4. MATERIAL REQUERIDO PERO NO SUMINISTRADO :

- Superficies de trabajo, protegidas con papel secante para reducir los efectos de derrame radiactivo.
- Contenedores para desechos, marcados convenientemente y aptos para materiales radiactivos sólidos o líquidos.
- Micropipetas manuales o automáticas para dispensar las muestras o los reactivos sin contaminación cruzada.
- Papel secante.
- Bomba de vacío, conectada por una válvula, para la aspiración.
- Baño María
- Un contador de radiaciones gama
- Papel gráfico apropiado para anotar los resultados.

5. METODOLOGÍA

5.1. Colección y manejo de las muestras de sangre :

La muestra de sangre puede ser coleccionada en un tubo seco.

Después de la separación de los glóbulos rojos, las muestras de suero pueden ser probadas inmediatamente, o después de 24 horas si se han guardado entre 2 - 8°C, o después de un período de unos meses si se guardan a -20°C. Evitar congelar y descongelar sucesivamente.

Para muestras de niños menores de 2 años, el 11-Desoxicortisol debe ser examinado inmediatamente después de extraída la muestra.

5.2. Procedimiento del ensayo:

Los reactivos guardados entre 2°- 8° C. deben estar a temperatura ambiente antes de su uso. No mezclar reactivos de baches diferentes. Marcar los tubos para T (« Conteos Totales » no utilizar tubos recubiertos) calibradores, muestras y controles.

Hacer el ensayo en duplicado. Calibradores, controles y muestras deben ser procesados al mismo tiempo.

1. Curva de calibración:

Pipetear 25 μl de cada calibrador en los tubos apropiados.

2. Muestras desconocidas y sueros de control:

Pipetear 25 μl de cada muestra o suero de control en los tubos apropiados.

3. Agregar 500 μl de trazador ${}^{125}\text{I} - 11\text{-DOC}$ a cada tubo.

4. Mezclar en agitador, cubrir e incubar por 2.5 horas a $37 \pm 2^\circ\text{C}$.
5. Cuidadosamente aspirar o decantar la solución de cada tubo. (Excepto los tubos de conteos totales) (antes de decantar, añadir 2 ml de tampón de lavado a cada tubo).
6. Añadir 2 ml de solución de lavado a cada tubo. Aspirar o decantar cuidadosamente.
7. Contar la radiactividad fijada en cada tubo durante al menos 60 segundos.

5.3. Procesamiento de los datos:

Determinar la proporción de recuento media para cada juego de tubos en duplicado.

Calcular la razón B/B0 según :

$$B/B0 \% = [\text{CAL o muestra cpm} / B0 (\text{CAL } 0) \text{ cpm}] \times 100$$

Dibujar la curva de calibración sobre papel semilogarítmico trazando la razón B/B0 % (escala lineal) obtenida para cada calibrador versus su concentración correspondiente expresada en ng/ml (escala logarítmica). Las concentraciones de 11-DOC en las muestras se pueden leer directamente de la curva de calibración.

Si se utiliza un ordenador para calcular los resultados, los datos pueden ser utilizados en la ecuación apropiada: spline suavizado.

5.4. Ejemplo de un ensayo típico:

	Contenido (ng/ml)	cpm 1er duplicado	cpm 2do duplicado	Media cpm	B/Bo (%)	11-DOC (ng/ml)
Conteo total	-	63015	62510	62762	-	-
CAL 0	0	31865	31445	31655	100	
CAL 1	0,3	27429	28004	27711	87,6	
CAL 2	1,5	20079	19803	19941	62,9	
CAL 3	5	13246	13152	13199	41,7	
CAL 4	20	6369	6509	6439	20,3	
CAL 5	65	3464	3480	3472	11	
C ₁ Bajo	-	22977	22569	22773	72	1
C ₂ Alto	-	13711	13699	13705	43,3	4,5
Muestra	-	4172	4242	4214	13,3	45,2

Ejemplo de un ensayo típico, no utilizar para cálculos

6. CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO:

6.1. Especificidad

Esteroides	% Reactividad cruzada
11-desoxicortisol	100
17 α Hidroxiprogesterona	5,6
Desoxicorticosterona	0,46
Progesterona	0,59
Cortisol	0,09
Estradiol-17 β	0,03
Androstenediona, Corticosterona, Dexametasona, Cortisona, Testosterona, DHEA-S, Aldosterona	N.D.

6.2. Concentración mínima detectable de 11-DOC

La concentración mínima detectable ha sido probada a 0,11 ng/ml y corresponde a la concentración obtenida de dos desviaciones estándar bajo el cpm medio de 20 determinaciones replicadas del calibrador cero.

6.3. Prueba de recuperación:

Cuando los sueros con contenido desconocido de 11-DOC son complementados agregándoles 11-DOC en volúmenes iguales (1/1), se obtiene una correlación satisfactoria entre el resultado de 11-DOC teórico y ensayado.

11-DOC Agregado (ng/ml) (1:1 en muestra de suero)	1,5	5	20	65
Teórico (ng/ml)	0,85	2,6	10,1	32,6
11-DOC Ensayado (ng/ml)	0,70	2,5	10,2	30,2
% de recuperación	82,4	96,2	101	92,6

6.4. Prueba de dilución :

La prueba de dilución indica que hay identidad inmunológica entre el 11-DOC presente en la muestra y el 11-DOC usado para calibrar la prueba.

Factor de Dilución	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
11-DOC Ensayado (ng/ml)	40,1	18,4	9,8	4,7	2,5	1,1	0,6
Esperado 11-DOC (ng/ml)	-	20,05	10	5	2,5	1,25	0,63
% de Recuperación	-	92	98	94	100	88	96

6.5. Reproducibilidad:

	Variación dentro del ensayo 5 réplicas		Variación entre ensayos 8 réplicas	
	Media (ng/mL)	% CV	Media (ng/mL)	% CV
Serie 1	1,1	6,2	1,95	8,7
Serie 2	3,7	5,2	5,48	11,5
Serie 3	28,3	7,7	36,85	15,1

7. LIMITACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

- Los resultados obtenidos de este u otro ensayo diagnóstico deben ser utilizados e interpretados solamente en el contexto de un cuadro clínico general.
- No utilice especímenes lipémicos, hemolizados, ictericos o turbios.

8. VALORES ESPERADOS

Sin Estímulo : < 7,2 ng/ml

Posterior a Estímulo con Metopirona : 72 – 225 ng/ml

9. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Sólo para uso en diagnóstico in vitro

Seguridad

Este kit contiene ^{125}I (vida media : 60 días) emisor de rayos X (28 keV) y de rayos γ (35.5 keV) ionizantes.

Este producto radiactivo solo puede ser manejado y utilizado por personas autorizadas; la compra, almacenaje, uso y cambio de productos radiactivos están sujetos a la legislación del país del usuario. En ningún caso el producto deberá ser suministrado a humanos o animales.

Todo el manejo de producto radiactivo se hará en una área designada, separada de áreas de circulación normal. Deberá llevarse un libro de registros de productos radiactivos utilizados. El material de laboratorio, y vidrio que podrían estar contaminados con sustancias radiactivas deberán ser aislados para evitar la contaminación cruzada con otros radioisótopos.

Cualquier derramamiento radiactivo deberá ser limpiado de inmediato de acuerdo con los procedimientos de seguridad. Los desperdicios radiactivos deberán ser eliminados de acuerdo con las regulaciones y normativas vigentes de la legislación a la cual pertenece el laboratorio. El ajustarse a las normas básicas de seguridad radiológica facilita una protección adecuada.

Los componentes de sangre humana utilizados en este kit han sido examinados por métodos aprobados por la CEE y/o la FDA siendo negativos para HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 y 2. No se conoce ningún método que asegure que los derivados de la sangre humana no transmitan hepatitis, SIDA u otras infecciones. Por lo tanto el manejo de los reactivos y muestras se hará de acuerdo con los procedimientos de seguridad locales.

Todos los productos animales y derivados han sido obtenidos a partir de animales sanos. Componentes bovinos originales de países donde BSE no ha sido informado. Sin embargo, los componentes conteniendo sustancias animales deberán ser considerados como potencialmente infecciosos.

Evitar cualquier contacto de los reactivos con la piel (azida sódica como conservante). La azida en este kit puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías y producir azidas metálicas altamente explosivas. Durante el proceso de lavado, hacer circular mucha cantidad de agua por el sumidero para evitar el almacenamiento de la azida.

No fumar, beber, comer o utilizar cosméticos en el área de trabajo. No pipetear con la boca. Utilizar ropa de protección y guantes.

Fecha de la revisión: 2011-02-28



11-DESOXYCORTISOL-RIA-CT

Test radioimmunologico per la determinazione quantitativa de
11- Desossicortisolo (11-DOC) nel siero umano
KIPI20000
SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

it

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax: +32 10 84 99 90

1. USO PREVISTO:

L'11-Desossicortisolo (Composto S) è uno steroide intermedio del processo di biosintesi dei glucocorticoidi. Precursore del cortisolo, esso deriva dal 17-idrossiprogesterone per azione della 11 beta idrossilasi. Tale parametro trova particolare utilità nella diagnosi e monitoraggio del trattamento del deficit enzimatico surrenalico dell'11 beta idrossilasi, responsabile di iperplasia surrenalica congenita nel bambino e di iperandrogenia nella donna adulta.

La secrezione di 11-Desossicortisolo, controllata dall'asse ipotalamico-pituitario attraverso l'ormone Adrenocorticotropo (ACTH), segue un ritmo circadiano raggiungendo il suo livello massimo al mattino (8 a.m. circa) e quello minimo durante le ore notturne (0-4 a.m.).

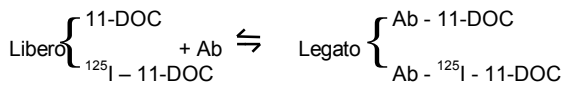
La misurazione dei livelli di 11-Desossicortisolo può essere eseguita su siero, utilizzando tecniche immunologiche basate sulla competizione (RIA).

Il metopirone inibisce l'11 beta idrossilasi e la conversione dell'11-Desossicortisolo in cortisolo.

Il test di determinazione del metopirone è un indicatore della riserva di ACTH.

2. PRINCIPIO DEL METODO:

L'11-Desossicortisolo RIA obbedisce alla legge dell'azione di massa conformemente alla seguente equazione :



Dal momento che le concentrazioni di ${}^{125}\text{I} - 11\text{-DOC}$ e di anticorpi rivestiti sono costanti, l'andamento dell'equazione dipende dalla concentrazione di 11-DOC. La quantità di ${}^{125}\text{I} - 11\text{-DOC}$ legata alla provetta rivestita è inversamente proporzionale alla concentrazione di 11-DOC presente nel campione.

Dopo l'incubazione, la provetta viene aspirata per rimuovere l'eccesso di 11-DOC etichettato non legato.

La concentrazione del campione paziente viene letta da una curva di calibrazione.

3. MATERIALE IN DOTAZIONE E RELATIVA CONSERVAZIONE:

Se conservato a 2-8°C, il materiale potrà essere utilizzato fino alla data di scadenza impressa su ciascuna etichetta.

3.1.

--

2 x 48 provette in polipropilene (12 x 75 mm) rivestite con anticorpi policlonali anti-11 DOC.

Lasciare sempre che le provette rivestite si portino a temperatura ambiente prima di utilizzazione. Conservare a 2-8°C.

3.2.

Ag	${}^{125}\text{I}$
----	--------------------

Tracciante analogo ${}^{125}\text{I} - 11\text{ DOC E}$ (giallo, 52 mL) :

1 flacone contenente < 5 μCi (185 kBq) di analogo 11 DOC ${}^{125}\text{I}$ -marcato, in tampone proteico contenente < 0.1% NaN_3 come conservante. Conservare a 2-8°C

3.3.

CAL	N
-----	---

Calibratori 11-DOC

5 flaconi, da 0,5 ml ciascuno, contenenti i calibratori 11-DOC da 0.3, 1.5, 5, 20 e 65 ng/ml, in siero umano, con < 0,1% di sodio azide come conservante. Conservare a 2-8°C. Da utilizzarsi entro la data di scadenza riportata sull'etichetta.

3.4.

CAL	0
-----	---

Calibratore Zero 11-DOC

Un flacone da 1 ml, contenente il calibratore zero da 0 ng/ml di 11-DOC, in siero umano, con < 0,1% di sodio azide come conservante. Conservare a 2-8°C. Da utilizzarsi entro la data di scadenza riportata sull'etichetta.

3.5.

CONTROL	N
---------	---

Control 1 - 2

2 flaconi, liofilizzati, da 0,5 ml ciascuno, contenenti alti e bassi livelli (livelli I e II) di 11-DOC in siero umano e di cavallo, con < 0,1% di sodio azide come conservante.

Conservare a 2-8°C. Da utilizzarsi entro la data di scadenza riportata sull'etichetta.

Prima dell'uso, ricostituire il contenuto dei controlli con 0,5 ml di acqua distillata.

3.6.

WASH	SOLN	CONC
------	------	------

Tampone di Lavaggio Concentrato

1 flacone di soluzione tamponata concentrata contenente sodio azide (NaN_3 < 0,1 %). Versare la soluzione in 700 ml di acqua distillata.

Nota: Fattore di conversione: 1 ng/ml = 2.886 nmol/L

1 nmol/L = 0.3465 ng/ml

4. MATERIALI RICHIESTI MA NON IN DOTAZIONE:

- superfici di banco protette con carta assorbente per ridurre gli effetti in caso di versamento di sostanze radioattive.
- contenitore per smaltimento dei rifiuti appositamente etichettato ed adatto ai materiali radioattivi solidi o liquidi.
- micropipette di precisione manuali o automatiche per l'erogazione di campioni o reagenti senza possibilità di contaminazione crociata.
- carta assorbente.
- pompa a vuoto per aspirazione collegata tramite un sifone intercettatore
- Bagnomaria
- un contatore gamma a scintillazione
- carta millimetrata idonea per tracciare i grafici dei risultati.

5. METODOLOGIA:

5.1. Raccolta e manipolazione dei campioni di sangue:

Il campione di sangue può essere raccolto in una provetta asciutta.

Dopo la separazione dai globuli rossi, sarà possibile testare i campioni di siero immediatamente, nell'arco delle 24 ore se conservati a 2-8°C oppure dopo molti mesi se conservati a -20°C. È necessario evitare ripetuti congelamenti e scongelamenti.

Nel caso di campioni di sangue appartenenti a bambini di età inferiore ai due anni, l'11-Desossicortisolo dovrà essere dosato immediatamente dopo una fase di estrazione.

5.2. Procedimento del test:

Prima dell'uso, portare a temperatura ambiente i reagenti conservati a 2-8°C. Non miscelare reagenti provenienti da lotti diversi. Etichettare le provette dei calibratori T (« Conteggi totali » non utilizzare provette rivestite), campioni e controlli.

Eseguire il test in duplicato. Eseguire il test contemporaneamente a calibratori, controlli e campioni.

1. Curva di calibrazione:

Pipettare 25 μl di ciascun calibratore nelle provette corrispondenti.

2. Controlli di contenuto non noto e campioni:

Pipettare 25 µl di ciascun campione o del siero di controllo nelle provette corrispondenti.

3. Aggiungere 500 µl di traccianti ¹²⁵I – 11-DOC in ogni provetta

4. Porre su vortex, coprire e incubare per 2,5 ore a 37 ± 2°C.

5. Aspirare con cautela o lasciare decantare (prima della decantazione, aggiungere a ogni provetta 2 ml di soluzione di lavaggio) la soluzione di tutte le provette. (eccetto le provette dei conteggi totali).

6. Aggiungere a ciascuna provetta 2 ml di soluzione di lavaggio. Aspirare o lasciare decantare con cautela.

7. Contare la radioattività fissata in ciascuna provetta per almeno 60 secondi.

Quando sieri a contenuto noto di 11-DOC sono stati addizionati con eguali volumi di 11-DOC (1/1), è stata ottenuta una correlazione soddisfacente tra valore di 11-DOC riscontrato e valore teorico.

11-DOC Aggiunto (ng/ml) (1:1 in campione di siero)	1,5	5	20	65
Teorico(ng/ml)	0,85	2,6	10,1	32,6
Riscontrato 11-DOC (ng/ml)	0,70	2,5	10,2	30,2
% Recupero	82,4	96,2	101	92,6

5.3. Elaborazione dei dati:

Determinare l'indice medio di conteggio relativo a ogni serie di provette in duplicato.

Calcolare il rapporto B/B0 procedendo come segue:

$$B/B0 \% = [\text{Cpm CAL o Campione} / \text{Cpm B0 (CAL 0)}] \times 100$$

Disegnare la curva di calibrazione su carta semilogaritmica tracciando il rapporto B/B0 % (scala lineare) ottenuto per ogni raffronto calibratore/rispettiva concentrazione, espresso in pg/ml (scala logaritmica). Le concentrazioni di 11-DOC nei campioni possono essere lette direttamente dalla curva di calibrazione.

Se si utilizza un computer per calcolare i risultati, i dati potranno essere inseriti alla seguente equazione: spline smussata

5.4. Esempio di test tipico:

	Contenuto (ng/ml)	cpm 1st duplicato	cpm 2nd duplicato	Media cpm	B/Bo (%)	11-DOC (ng/ml)
Conteggi totali	-	63015	62510	62762	-	-
CAL 0	0	31865	31445	31655	100	
CAL 1	0,3	27429	28004	27711	87,6	
CAL 2	1,5	20079	19803	19941	62,9	
CAL 3	5	13246	13152	13199	41,7	
CAL 4	20	6369	6509	6439	20,3	
CAL 5	65	3464	3480	3472	11	
C ₁ Basso	-	22977	22569	22773	72	1
C ₂ Alto	-	13711	13699	13705	43,3	4,5
Campione	-	4172	4242	4214	13,3	45,2

Esempio di test tipico, da non utilizzare per i calcoli

6. CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE:

6.1. Specificità

Steroide	% Reattività crociata
11-desossicortisolo	100
17α Idroprogesterone	5,6
Desossicorticosterone	0,46
Progesterone	0,59
Cortisolo	0,09
17 β Estradiolo	0,03
Androstenedione, Corticosterone, Desametasone, Cortisone, Testosterone, DHEA-S, Aldosterone	N.D.

6.2. Concentrazione minima rilevabile di 11-DOC

La concentrazione minima rilevabile è stata testata a 0,11 ng/ml e corrisponde alla concentrazione ottenuta da due deviazioni standard inferiori al cpm medio delle 20 determinazioni replicate del calibratore zero.

Test di Recupero

6.3. Test di Diluizione

Il test di diluizione evidenzia l'identità immunologica tra 11-DOC presente nel campione e 11-DOC utilizzato per la calibrazione del test.

Fattore di Diluizione	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
11-DOC (ng/ml) Riscontrato	40,1	18,4	9,8	4,7	2,5	1,1	0,6
11-DOC (ng/ml) Atteso	-	20,05	10	5	2,5	1,25	0,63
% Recupero	-	92	98	94	100	88	96

6.4. Riproducibilità:

	Variabilità intra saggio 5 repliche		Variabilità inter saggio 8 repliche	
	Mean (ng/mL)	% CV	Mean (ng/mL)	% CV
Gruppo 1	1,1	6,2	1,95	8,7
Gruppo 2	3,7	5,2	5,48	11,5
Gruppo 3	28,3	7,7	36,85	15,1

7. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

- Utilizzare e interpretare i risultati ottenuti con questo o con qualsiasi altro kit diagnostico esclusivamente nell'ambito di un quadro clinico generale.
- Non utilizzare campioni lipemici, emolizzati, itterici o torbidi.

8. VALORI ATTESI

Senza stimolazione : < 7,2 ng/ml

Dopo stimolazione con Metopirone : 72 – 225 ng/ml

9. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Solo per uso DIAGNOSTICO IN VITRO

Sicurezza

Il kit contiene ¹²⁵I (emivita: 60 giorni) emettente raggi X (28 keV) e γ (35.5 keV) ionizzanti.

L'acquisto, la detenzione, l'utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale. In nessun caso il prodotto può essere somministrato ad esseri umani o animali.

Usare sempre guanti e camici da laboratorio quando si manipola materiale radioattivo. Le sostanze radioattive devono essere conservate in propri contenitori in appositi locali che devono essere interdetti alle persone non autorizzate. Deve essere tenuto un registro di carico e scarico del materiale radioattivo. Il materiale di laboratorio e la vetreria deve essere dedicato all'uso di isotopi specifici per evitare cross-contaminazioni.

In caso di contaminazione o dispersione di materiale radioattivo, fare riferimento alle norme locali di radioprotezione. I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti secondo le norme locali di radioprotezione. Lo scrupoloso rispetto delle norme per l'uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori.

I reattivi di origine umana presenti nel kit sono stati dosati con metodi approvati da organismi di controllo europei o da FDA e si sono rivelati negativi per HBs Ag, anti HCV, anti HIV1 e anti HIV2. Non sono disponibili metodi in grado di offrire la certezza assoluta che derivati da sangue umano non possano provocare epatiti, AIDS o trasmettere altre infezioni. Manipolare questi reattivi o i campioni di siero o plasma secondo le procedure di sicurezza vigenti.

Tutti i prodotti di origine animale o loro derivati provengono da animali sani. I componenti di origine bovina provengono da paesi dove non sono

stati segnalati casi di BSE. E' comunque necessario considerare i prodotti di origine animale come potenziali fonti di infezioni. Evitare ogni contatto dell'epidermide con i reattivi contenenti sodio azide come conservante. La sodio azide puo' reagire con piombo rame o ottone presenti nelle tubature di scarico per formare metallo-azidi esplosive. Smaltire questi reattivi facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi. Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non e' consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici. Non pipettare i reattivi con pipette a bocca.

Data di revisione: 2011-02-28



11-DESOXYCORTISOL-RIA-CT

Ραδιοανοσολογικός προσδιορισμός για τον ποσοτικό προσδιορισμό της
11- δεσοξυκορτιζόλης (11-DOC) σε ανθρώπινο ορό
KIP120000



Μόνο για IN VITRO ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ χρήση

DIASource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax : +32 10 84 99 90

1. ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ:

Η 11-δεσοξυκορτιζόλη (Ένωση S) είναι ένα ενδιάμεσο στεροειδές της βιοσύνθεσης των γλυκοκορτικοειδών. Αποτελεί πρόδρομο μόριο της κορτιζόλης και προέρχεται από τη 17-υδροξυπρογεστερόνη μετά την επίδραση της 11 β-υδροξυλάσης. Η παράμετρος αυτή είναι ενδιαφέρουσα για τη διάγνωση και την παρακολούθηση της θεραπείας σε περιπτώσεις επινεφριδιακής ανεπάρκειας του ένζυμου 11-β υδροξυλάση η οποία είναι υπεύθυνη για τη συγγενή υπερπλασία των επινεφριδίων στα παιδιά και την υπερανδρογοναιμία σε ενήλικες γυναίκες.

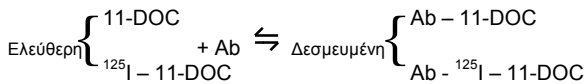
Η έκκριση της 11-δεσοξυκορτιζόλης εμφανίζει ημερήσια διακύμανση υπό τον έλεγχο του άξονα υποθάλαμου-υπόφυσης μέσω της ορμόνης αδενοκορτικοτροπίνης (ACTH): προσεγγίζει μια μέγιστη τιμή το πρωί (γύρω στις 8 π.μ.) και μια ελάχιστη το βράδυ (μεταξύ 0 και 4 π.μ.)

Η μέτρηση της 11-δεσοξυκορτιζόλης μπορεί να εκτελεστεί στον ορό με τη χρήση ανοσολογικών μεθόδων ανταγωνιστικού τύπου (RIA).

Η μετραπευτική αναστέλει την 11 β-υδροξυλάση και τη μετατροπή της 11-δεσοξυκορτιζόλης σε κορτιζόλη. Η δοκιμασία μετραπευτικής αποτελεί δείκτη των αποθεμάτων της ACTH.

2. ΒΑΣΙΚΗ ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ:

Το 11-Desoxycortisol RIA υπακούει στο νόμο δράσης των μαζών σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση:



Εφόσον οι συγκεντρώσεις της ${}^{125}\text{I} - 11\text{-DOC}$ και των επιστρωμένων αντισωμάτων είναι σταθερές, η πρόοδος της εξίσωσης εξαρτάται από τη συγκέντρωση της 11-DOC. Η ποσότητα της δεσμευμένης ${}^{125}\text{I} - 11\text{-DOC}$ στο επιστρωμένο σωληνάριο είναι αντιστρόφως ανάλογη της συγκέντρωσης της 11 DOC στο δείγμα.

Μετά την επώαση, γίνεται αναρρόφηση του περιεχομένου του σωληναρίου για την απομάκρυνση της πλειοψηφίας της ελεύθερης, σημασμένης με ${}^{125}\text{I}$ 11-DOC.

Οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων των ασθενών διαβάζονται σε μια καμπύλη βαθμονόμησης.

3. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΦΥΛΑΞΗ:

Όταν φυλάσσονται στους 2 - 8° C, τα υλικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται σε κάθε ετικέτα.

3.1. **2 x 48 σωληνάρια από πολυπροπυλένιο** (12 x 75 mm) επιστρωμένα με πολυκλωνικά αντισώματα αντι- 11-DOC.

Αφήντε συστηματικά τα επιστρωμένα σωληνάρια να φθάνουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν τη χρήση. Αποθηκεύστε στους 2-8°C.

3.2. **Ag ${}^{125}\text{I}$ ${}^{125}\text{I} - 11\text{ DOC E}$ ανάλογο-ιχνηθέτης** (κίτρινο, 52 mL) :

1 φιάλη, που περιέχει < 5 μCi (185 kBq) σημασμένου με ${}^{125}\text{I}$ ανάλογο της 11 DOC σε πρωτεϊνικό ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει < 0.1% NaN_3 ως συντηρητικό. Αποθηκεύστε στους 2-8°C.

3.3. **CAL N 11-DOC Βαθμονομητές**

5 φιαλίδια των 0.5 ml έκαστο, που περιέχουν 0.3, 1.5, 5, 20 και 65 ng/ml βαθμονομητών 11-DOC σε ανθρώπινο ορό με < 0.1% αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό. Αποθηκεύστε στους 2-8°C. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται σε κάθε ετικέτα.

3.4. **CAL 0 11-DOC Μηδενικός βαθμονομητής**

Ένα φιαλίδιο, 1 ml, που περιέχει 0 ng/ml 11-DOC μηδενικού βαθμονομητή σε ανθρώπινο ορό με < 0.1% αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό. Αποθηκεύστε στους 2-8°C. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα.

3.5. **CONTROL N Control 1 - 2**

2 φιαλίδια, λυοφιλοποιημένα, 0.5 ml έκαστο, επιπέδου I και επιπέδου II που περιέχουν χαμηλά και υψηλά επίπεδα 11-DOC σε ανθρώπινο ορό και σε ορό αλόγου με < 0.1% αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

Αποθηκεύστε στους 2-8°C. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται σε κάθε ετικέτα.

Πριν από τη χρήση, να ανασυσταθούν τα περιεχόμενα των διαλυμάτων ελέγχου με 0.5 ml αποσταγμένου νερού.

3.6. **WASH SOLN CONC Συμπυκνωμένο ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης**

1 φιαλίδιο ρυθμιστικού διαλύματος με συντηρητικό: NaN_3 (<0,1%). Αραιώστε το περιεχόμενο του φιαλιδίου με αποσταγμένο νερό μέχρι τα 700 ml (τελικός όγκος).

Σημείωση: Συντελεστής μετατροπής: 1 ng/ml = 2.886 nmol/L

1 nmol/L = 0.3465 ng/ml

4. ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ:

- Επιφάνειες πάγκου προστατευμένες με απορροφητικό χαρτί για να μειωθούν οι επιπτώσεις από πιτσιλίσματα ραδιενεργού υλικού.
- Δοχεία απόρριψης αποβλήτων σημασμένα όπως πρέπει και κατάλληλα για στερεά ή υγρά ραδιενεργά υλικά.
- Μη αυτόματες ή αυτοματοποιημένες μικροπιπέτες ακριβείας για τη διανομή των δειγμάτων ή των αντιδραστηρίων χωρίς κίνδυνο επιμόλυνσης.
- Απορροφητικό χαρτί.
- Αντλία κενού συνδεδεμένη μέσω σιφονιού, για αναρρόφηση
- Επωαστήρας στους 37° C
- Απαριθμητής σπινθηρισμών γ ακτινοβολίας.
- Χαρτί γραφημάτων κατάλληλο για την αποτύπωση των αποτελεσμάτων.

5. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ:

5.1. **Συλλογή και χειρισμός των δειγμάτων αίματος:**

Το δείγμα αίματος μπορεί να συλλεχθεί σε ένα στεγνό σωληνάριο.

Μετά από διαχωρισμό από τα ερυθρά αιμοσφαίρια, τα δείγματα ορού μπορούν να υποβάλλονται σε προσδιορισμό αμέσως, εντός 24 ωρών, αν φυλάσσονται στους 2 - 8° C, ή αργότερα, μετά από μια περίοδο έως και αρκετών μηνών, αν φυλάσσονται στους -20° C. Πρέπει να αποφεύγεται η επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη.

Για δείγματα παιδιών κάτω των 2 ετών, η 11-δεσοξυκορτιζόλη πρέπει να προσδιορίζεται αμέσως μετά από ένα βήμα εκχύλισης.

5.2. Διαδικασία του προσδιορισμού:

Τα αντιδραστήρια που φυλάσσονται στους 2° - 8° C πρέπει να φθάσουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Δεν πρέπει να αναμειγνύετε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες. Σημάνετε τα σωληνάρια για T («Total» [μετρήσεις του ιχνηθέτη], μη χρησιμοποιείτε επιστρωμένα σωληνάρια), τους βαθμονομητές, τα δείγματα και τους ορούς ελέγχου.

Εκτελέστε τον προσδιορισμό εις διπλούν. Οι βαθμονομητές, οι οροί ελέγχου και τα δείγματα πρέπει να υποβάλλονται σε προσδιορισμό ταυτόχρονα.

1. Καμπύλη βαθμονόμησης:

Διανείμετε με πιπέτα 25 μl από κάθε βαθμονομητή στα αντίστοιχα σωληνάρια.

2. Δείγματα και ορό ελέγχου:

Διανείμετε με πιπέτα 25 μl από κάθε δείγμα ή ορό ελέγχου στα αντίστοιχα σωληνάρια.

3. Προσθέστε 500 μl ιχνηθέτη ¹²⁵I – 11-DOC σε κάθε σωληνάριο.

4. Αναμείξτε με αναμείκτη στροβιλισμού (vortex) , καλύψτε και επώαστε 2.5 ώρες στους 37 ± 2°C.

5. Αναρροφήστε προσεκτικά ή μεταγγίστε (πριν από τη μεταγγιση προσθέστε 2 ml από το διάλυμα πλύσης σε κάθε σωληνάριο) το διάλυμα όλων των σωληναρίων. (Εκτός από τα σωληνάρια που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ["total"]).

6. Προσθέστε 2 ml από το διάλυμα πλύσης σε κάθε σωληνάριο. Αναρροφήστε ή μεταγγίστε προσεκτικά.

7. Μετρήστε τη δεσμευμένη σε κάθε σωληνάριο ραδιενέργεια επί τουλάχιστον 60 δευτερόλεπτα.

5.3. Επεξεργασία δεδομένων:

Προσδιορίστε τη μέση τιμή κρούσεων για κάθε σετ διπλών σωληναρίων.

Υπολογίστε το λόγο B/B0 ως ακολούθως:

$$B/B0 \% = \left[\frac{\text{Πρότυπο διάλυμα ή cpm δείγματος}}{\text{B0 (Πρότυπο διάλυμα 0) cpm}} \right] \times 100$$

Σχεδιάστε την καμπύλη βαθμονόμησης σε ημιλογαριθμικό χαρτί αποτυπώνοντας το λόγο B/B0 % (γραμμική κλίμακα) που έχει ληφθεί για κάθε βαθμονομητή έναντι της αντίστοιχής του συγκέντρωσης, εκφρασμένης σε ng/ml (λογαριθμική κλίμακα). Οι συγκεντρώσεις 11-DOC σε δείγματα είναι δυνατόν να αναγνωστούν απευθείας από τη καμπύλη βαθμονόμησης.

Αν χρησιμοποιείται ηλεκτρονικός υπολογιστής για τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων, τα δεδομένα είναι δυνατόν να προσαρμοστούν στην κατάλληλη εξίσωση: ομαλοποιημένη καμπύλη spline.

5.4. Παράδειγμα ενός τυπικού προσδιορισμού:

	Περιεχόμενα (ng/ml)	1 ^ο cpm επανάληψη	2 ^ο cpm επανάληψη	Μέση τιμή cpm	B/B0 (%)	11-DOC (ng/ml)
Μετρήσεις του ιχνηθέτη ("total")	-	63015	62510	62762	-	-
Πρότυπο διάλυμα 0	0	31865	31445	31655	100	
Πρότυπο διάλυμα 1	0,3	27429	28004	27711	87,6	
Πρότυπο διάλυμα 2	1,5	20079	19803	19941	62,9	
Πρότυπο διάλυμα 3	5	13246	13152	13199	41,7	
Πρότυπο διάλυμα 4	20	6369	6509	6439	20,3	
Πρότυπο διάλυμα 5	65	3464	3480	3472	11	
Βαθμονομητής 1 χαμηλής τιμής	-	22977	22569	22773	72	1
Βαθμονομητής 2 υψηλής τιμής	-	13711	13699	13705	43,3	4,5
Δείγμα	-	4172	4242	4214	13,3	45,2

Παράδειγμα ενός τυπικού προσδιορισμού (να μη χρησιμοποιηθεί για υπολογισμούς)

6. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ:

6.1. Ειδικότητα

Στεροειδές	% Διασταυρούμενη αντιδραστικότητα
11-δεσοξυκορτιζόλη	100
17α Υδροξυπρωγεστερόνη	5,6
Δεσοξυκορτικοστερόνη	0,46
Πρωγεστερόνη	0,59
Κορτιζόλη	0,09
17 β-Οιστραδιόλη	0,03
Ανδροστενεδιόνη, Κορτικοστερόνη, Δεξαμεθαζόνη, Κορτιζόνη, Τεστοστερόνη, DHEA-S, Αλδοστερόνη	Δεν ανιχνεύτηκε

6.2. Ελάχιστη ανιχνεύσιμη συγκέντρωση 11-DOC

Η ελάχιστη ανιχνεύσιμη συγκέντρωση έχει προσδιοριστεί στα 0,11 ng/ml και αντιστοιχεί στη συγκέντρωση που παρέχεται από δύο τυπικές αποκλίσεις κάτω από το μέσο cpm 20 επαναλαμβανόμενων προσδιορισμών του μηδενικού βαθμονομητή.

6.3. Δοκιμασία ανάκτησης:

Όταν σε ορούς γνωστής περιεκτικότητας σε 11-DOC, η 11-DOC ενισχύεται με προσθήκη 11-DOC σε ίσους όγκους (1/1), προκύπτει μια ικανοποιητική συσχέτιση μεταξύ της θεωρητικής και της μετρούμενης 11-DOC.

Προστιθέμενη 11-DOC (ng/ml) (1:1 σε δείγμα ορού)	1,5	5	20	65
Θεωρητική (ng/ml)	0,85	2,6	10,1	32,6
Μετρούμενη 11-DOC (ng/ml)	0,70	2,5	10,2	30,2
% ανάκτηση	82,4	96,2	101	92,6

6.4. Δοκιμασία αραίωσης:

Η δοκιμασία αραίωσης δεικνύει πως υφίσταται ανοσολογική ταύτηση μεταξύ της 11-DOC που υπάρχει στο δείγμα και της 11-DOC που χρησιμοποιείται για τη βαθμονόμηση της δοκιμασίας.

Συντελεστής αραίωσης	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Μετρούμενη 11-DOC (ng/ml)	40,1	18,4	9,8	4,7	2,5	1,1	0,6
Αναμενόμενη 11-DOC (ng/ml)	-	20,05	10	5	2,5	1,25	0,63
% Ανάκτηση	-	92	98	94	100	88	96

6.5. Αναπαραγωγιμότητα:

	Διακύμανση στα πλαίσια του ίδιου προσδιορισμού 5 επαναλήψεων		Διακύμανση μεταξύ διαφορετικών προσδιορισμών 8 επαναλήψεων	
	Μέση τιμή (ng/mL)	% CV	Μέση τιμή (ng/mL)	% CV
Μείγμα 1	1,1	6,2	1,95	8,7
Μείγμα 2	3,7	5,2	5,48	11,5
Μείγμα 3	28,3	7,7	36,85	15,1

7. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

- Τα αποτελέσματα που λαμβάνονται από το παρόν ή οποιοδήποτε άλλο διαγνωστικό kit θα πρέπει να χρησιμοποιούνται και να ερμηνεύονται μόνο στο πλαίσιο μιας γενικότερης κλινικής εικόνας.
- Μην χρησιμοποιείτε λιπαιμικά, αιμολυμένα, ικτερικά ή θολά δείγματα.

8. ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Χωρίς διέγερση : < 7,2 ng/ml

Μετά από διέγερση με μετυραπόνη : 72 – 225 ng/ml

9. ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Μόνο για *IN VITRO* ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ χρήση

Ασφαλείας

Το kit αυτό περιέχει το ¹²⁵I (Χρόνος ημιζωής: 60 ημέρες), μια ραδιενεργή ουσία η οποία εκπέμπει ιονίζουσα ακτινοβολία Χ (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.

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 ασφαλείας 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 ασφαλείας από ραδιενέργεια παρέχει επαρκή προστασία.

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 ασφαλείας. 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.

Αποφεύγετε 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.

Ημερομηνία αναθεώρησης: 2011-02-28



11-DESOXYCORTISOL-RIA-CT

Radioimunoensaio para Determinação Quantitativa de
11- Desoxicortisol (11-DOC) em Soro Humano
KIPI20000

pt

SOMENTE PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

DIAsource ImmunoAssays SA - Rue du Bosquet 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium - Tel: +32 10 84 99 11 - Fax: +32 10 84 99 90

1. Intenção de uso:

O 11-Desoxicortisol (Composto S) é um esteroide intermediário na biosíntese de glucocorticóides. Precursor do cortisol, ele vem da 17-hydroxiprogesterona após a ação da 11 beta hidroxilase. Este parâmetro é interessante para o diagnóstico e em seguida para o tratamento nos casos de deficiência enzimática surrenal na 11 beta hidroxilase que é responsável pela hiperplasia surrenal congênita em crianças e mulheres adultas.

Sob o controle hipotalâmico-pituitário via hormônio Adrenocorticotrópico (ACTH), a secreção de 11-Desoxicortisol segue uma variação nictemeral: alcança a máxima na manhã (por volta das 8:00) e a mínima durante a noite (entre 0:00 e 4:00)

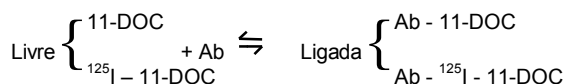
A medida de 11-Desoxicortisol pode ser realizada em soro usando métodos de competição imunológica (RIA).

A metopirona inibe a 11 beta hydroxilase e a conversão de 11-Desoxicortisol em cortisol.

O teste da metopirona é um indicador da reserva de ACTH.

2. PRINCÍPIO DO MÉTODO:

O RIA 11-Desoxicortisol obedece à lei da ação da massa atuando de acordo com a equação a seguir :



Desde que as concentrações de ${}^{125}\text{I}$ - TF e anticorpos adsorvidos são constantes, o estado de progresso da equação depende da concentração de TF. A quantidade de ${}^{125}\text{I}$ - TF ligado ao tubo adsorvido é inversamente proporcional à concentração de TF na amostra.

Seguindo a incubação, o tubo é aspirado para remover o excesso de T marcado não ligado.

Concentração das amostras de pacientes são lidas na curva de calibração.

3. MATERIAL FORNECIDO E ESTOCAGEM:

Estocado à 2 - 8°C, o material pode ser usado até o prazo de validade impresso em cada etiqueta.

3.1.  **2 x 48 Tubos de Poliestireno (12 x 75 mm)** adsorvidos com anticorpos policlonais anti-11 DOC.

Permita que os tubos adsorvidos alcancem a temperatura ambiente antes do uso. Estoque a 2-8°C.

3.2.  **${}^{125}\text{I}$ - 11 DOC E marcador análogo** (amarelo, 52 mL) :

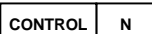
1 frasco, contendo < 5 μCi (185 kBq) de ${}^{125}\text{I}$ -marcado 11 DOC análogo em tampão de base protéica contendo < 0.1% NaN_3 como preservativo. Estoque a 2-8°C.

3.3.  **Calibradores 11-DOC**

5 frascos, 0.5 ml cada, contendo 0.3, 1.5, 5, 20 e 65 ng/ml de calibradores 11-DOC em soro humano com < 0.1% azida sódica como preservativo. Estoque a 2-8°C. Pode ser usado até a data de validade marcada em cada etiqueta.

3.4.  **Calibrador Zero11-DOC**

Um frasco, 1 ml, contendo 0 ng/ml de calibrador zero 11-DOC em soro humano com < 0.1% de azida sódica como preservativo. Estoque a 2-8°C. Pode ser usado até a data de validade marcada em cada etiqueta.

3.5.  **Controle 1 - 2**

2 frascos, liofilizados, 0.5 ml cada, nível I e nível II contendo níveis altos e baixos de 11-DOC em soros humanos e eqüinos com < 0.1% azida sódica como preservativo.

Estoque a 2-8°C. Pode ser usado até a data de validade marcada em cada etiqueta.

Antes do uso, reconstitua os conteúdos dos controles com 0.5 ml de água destilada.

3.6.  **Tampão de Lavagem Concentrado**

1 frasco de solução tampão concentrado contendo azida sodica (NaN_3 < 0.1 %). Coloque a solução em 700 ml de água destilada.

Nota: Fator de conversão: 1 ng/ml = 2.886 nmol/L
1 nmol/L = 0.3465 ng/ml

4. MATERIAL REQUERIDO MAS NÃO FORNECIDO :

- bancada, protegida por papel absorvente para reduzir os efeitos da contaminação pela radioatividade.
- containers para descarte do lixo, apropriadamente marcado e apropriado para materiais radioativos líquidos e sólidos.
- micropipetas manuais ou automáticas para dispensar amostras ou reagentes sem contaminação cruzada.
- papel absorvente.
- bomba de vácuo, para aspiração.
- banho maria
- contador de cintilação gamma
- papel gráfico apropriado para plotar os resultados.

5. METODOLOGIA

5.1. Coleta e manuseio das amostras de sangue :

A amostra de sangue pode ser coletada dentro de um tubo seco.

Após separação das células vermelhas, as amostras de soro podem ser analisadas imediatamente, dentro de 24 horas se estocadas à 2 - 8°C, ou mais tarde, após um período superior a alguns meses, se estocadas à -20°C. Deve-se evitar repetidos descongelamentos e congelamentos.

Para amostras de crianças com menos de 2 anos de idade, o 11-Desoxicortisol deve ser analisado imediatamente após o passo de extração.

5.2 Procedimento do ensaio:

Reagentes estocados à 2° - 8° C. devem ser colocados à temperatura ambiente antes do uso. Não misture reagentes de diferentes lotes. Marque os tubos para T (« ContagemTotal » não use tubos recobertos) calibradores, amostras e controles.

Realize o ensaio em duplicata. Calibradores, controles e amostras devem ser analisados ao mesmo tempo.

1. Curva calibradora:

Pipete 25 μl de cada calibrador dentro dos tubos correspondentes.

2. Desconhecidos e soro controle:

Pipete 25 μl de cada amostra ou soro controle dentro dos tubos correspondentes.

3. Adicione 500 μl de marcador ${}^{125}\text{I}$ - 11-DOC para cada tubo.

4. Vortex, cubra e incube por 2.5 horas a $37 \pm 2^\circ\text{C}$.

5. Cuidadosamente aspire ou decante (antes de decantar, adicione 2 ml de solução de lavagem em cada tubo) a solução de todos os tubos. (Exceto tubos de contagem total).

6. Adicione 2 ml de solução de lavagem em cada tubo. Aspire ou decante cuidadosamente.

7. Conte a radioatividade fixada em cada tubo por pelo menos 60 segundos.

5.3 Processando os dados:

Calcule a proporção B/B0 como a seguir :

$$B/B0 \% = [\text{CAL ou amostra cpm} / \text{B0 (CAL 0) cpm}] \times 100$$

Desenhe a curva calibradora em papel semilogarítmico plotando a proporção B/B0 % (escala linear) obtida de cada calibrador versus sua respectiva concentração expressada em pg/ml (escala logarítmica). Concentração de 11-DOC nas amostras podem ser lidas diretamente da curva calibradora.

Se o computador é usado para calcular os resultados, os dados devem ser ajustados para equação apropriada : smoothed spline.

5.4 Exemplo de um ensaio típico:

	Contenu do (ng/ml)	cpm 1st duplicata	cpm 2nd duplicata	Média cpm	B/Bo (%)	11-DOC (ng/ml)
Contagem Total	-	63015	62510	62762	-	-
CAL 0	0	31865	31445	31655	100	
CAL 1	0,3	27429	28004	27711	87,6	
CAL 2	1,5	20079	19803	19941	62,9	
CAL 3	5	13246	13152	13199	41,7	
CAL 4	20	6369	6509	6439	20,3	
CAL 5	65	3464	3480	3472	11	
C ₁ Baixo	-	22977	22569	22773	72	1
C ₂ Alto	-	13711	13699	13705	43,3	4,5
Amostra	-	4172	4242	4214	13,3	45,2

Exemplo de ensaio típico, não use para cálculos

6 PERFORMANCE CARACTERÍSTICAS:

6.2 Especificidade

Esteróide	% Reação-cruzada
11-desoxicortisol	100
17 α Hidroxiprogesterona	5,6
Desoxicorticosterona	0,46
Progesterona	0,59
Cortisol	0,09
Estradiol-17 β	0,03
Androstenediona, Corticosterona, Dexametasona, Cortisona, Testosterona, DHEA-S, Aldosterona	N.D.

6.3 Concentração mínima detectável de 11-DOC

Concentração mínima detectável tem sido analisada a 0,11 ng/ml e corresponde a concentração dada por dois desvios padrões abaixo da média com 20 determinações replicadas do calibrador zero.

6.4 Teste de Recuperação:

Quando soros contendo uma quantidade conhecida de 11-DOC recebem adição de 11-DOC em quantidades iguais (1/1), uma correlação satisfatória entre 11-DOC teórico e analisado é obtido.

Adicionado 11-DOC (ng/ml) (1:1 em amostra de soro)	1,5	5	20	65
Teoricamente (ng/ml)	0,85	2,6	10,1	32,6
Analisado 11-DOC (ng/ml)	0,70	2,5	10,2	30,2

% recuperação	82,4	96,2	101	92,6
---------------	------	------	-----	------

6.5 Teste de diluição:

O teste de diluição indica se há identidade imunológica entre 11-DOC presente na amostra e o 11-DOC usado para calibrar o teste.

Fator de diluição	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Analisado 11-DOC (ng/ml)	40,1	18,4	9,8	4,7	2,5	1,1	0,6
Esperado 11-DOC (ng/ml)	-	20,05	10	5	2,5	1,25	0,63
% Recuperado	-	92	98	94	100	88	96

6.6 Reprodutibilidade:

	Variação dentro do ensaio 5 replicatas		Variação entre os ensaios 8 replicatas	
	Mean (ng/mL)	% CV	Mean (ng/mL)	% CV
Pool 1	1,1	6,2	1,95	8,7
Pool 2	3,7	5,2	5,48	11,5
Pool 3	28,3	7,7	36,85	15,1

7 LIMITAÇÃO DO PROCEDIMENTO

- Os resultados obtidos deste ou de outro kit de diagnóstico devem ser usados e interpretados somente dentro do contexto de um quadro clínico.
- Não use amostras lipêmicas, hemolizadas, ictericas ou turvas.

8 VALORES ESPERADOS

Sem estimulação : < 7,2 ng/ml

Após estimulação com Metopirona : 72 – 225 ng/ml

9 CUIDADOS E PRECAUÇÕES

Somente para diagnóstico IN VITRO

Segurança

Este kit contém ¹²⁵I (meia-vida: 60 dias), emitindo radiações X (28 keV) e γ (35.5 keV) ionizantes. Este produto radioactivo pode apenas ser transportado e utilizado por pessoal autorizado: a compra, armazenamento, utilização e troca de produtos radioactivos estão sujeitas à legislação nacional vigente. Em nenhum caso, este produto pode ser administrados a seres humanos ou a animais.

Toda a manipulação radioactiva deve ser efectuada em local próprio e exclusivo para tal. Deve ser mantido no laboratório, um livro de registo para a recepção e armazenamento de material radioactivo. O equipamento do laboratório e equipamento de vidro que possa ser contaminado com radioactividade, deve ser segregado para evitar contaminação cruzada com diferentes isótopos. Qualquer derrame de material radioactivo deve ser imediatamente limpo, de acordo com os procedimentos de radioprotecção. O lixo radioactivo deve ser rejeitado de acordo com a legislação vigente e as regras do laboratório. A adesão às regras básicas da segurança com radioactividade, fornece a protecção adequada.







Os componentes de sangue humano incluídos neste kit foram testados por métodos aprovados pela legislação europeia e/ou FDA e dados como negativos para o HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 e 2. Não existe nenhum método, até agora conhecido, que ofereça total segurança quanto à impossibilidade de transmissão de hepatite, HIV ou outras infecções, por via do sangue humano. Por isso, deve manipular os reagentes, o soro ou o plasma de acordo com as regras locais de segurança, quanto a materiais potencialmente infecciosos.

Todos os produtos de origem animal e seus derivados foram recolhidos de animais saudáveis. Os componentes bovinos, vieram de países sem casos notificados de BSE. No entanto, todos estes componentes devem ser manipulados como sendo potencialmente infecciosos.

Evite o contacto da pele e mucosas com os reagentes (azida sódica como conservante). A azida pode reagir com o chumbo e com o cobre das canalizações e formar compostos explosivos. Rejeitar com abundante quantidade de água corrente para evitar acumulações destes compostos.

Não fume, coma, beba ou aplique cosméticos na área de trabalho. Não pipete com o auxílio da boca. Use vestuário adequado de protecção e luvas.

Data da revisão: 2011-02-28

	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	Antisérums
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>Símbolos utilizados</u>
	Consultar las instrucciones de uso
	Limitación de temperatura
	Fecha de caducidad
LOT	Código de lote
REF	Número de catálogo
CONTROL	Control
I V D	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Fabricante
	Contenido suficiente para <n> ensayos
WASH SOLN CONC	Solución de lavado concentrada
CAL 0	Calibrador cero
CAL N	Calibrador #
CONTROL N	Control #
Ag 125I	Trazador
Ab 125I	Trazador
Ag 125I CONC	Trazador concentrada
Ab 125I CONC	Trazador concentrada
	Tubos
INC BUF	Tampón de incubación
ACETONITRILE	Acetonitrilo
SERUM	Suero
DIL SPE	Diluyente de Muestra
DIL BUF	Tampón de dilución
ANTISERUM	Antisuero
IMMUNOADSORBENT	Inmunoadsorbente
DIL CAL	Diluyente de calibrador
REC SOLN	Solución de Reconstitución
PEG	Glicol Polietileno
EXTR SOLN	Solución de extracción
ELU SOLN	Solución de elución
GEL	Cartuchos Bond Elut Silica
PRE SOLN	Solución de Pre-tratamiento
NEUTR SOLN	Solución de Neutralización
TRACEUR BUF	Tampón de trazador
TLU	Placa de microvaloración
Ab HRP	HRP Conjugado
Ag HRP	HRP Conjugado
Ab HRP CONC	HRP Conjugado concentrada
Ag HRP CONC	HRP Conjugado concentrada
CONJ BUF	Tampón de Conjugado
CHROM TMB CONC	Cromógena TMB concentrada
CHROM TMB	Solución Cromógena TMB
SUB BUF	Tampón de sustrato
STOP SOLN	Solución de Parada
INC SER	Suero de Incubación
BUF	Tampón
Ab AP	AP Conjugado
SUB PNPP	Sustrato PNPP
BIOT CONJ CONC	Concentrado de conjugado de biotina
AVID HRP CONC	Concentrado avidina-HRP
ASS BUF	Tampón de ensayo
Ab BIOT	Conjugado de biotina
Ab	Anticuerpo específico
SAV HRP CONC	Estreptavidina-HRP Concentrado
NSB	Unión no específica
2nd Ab	Segundo anticuerpo
ACID BUF	Tampón de Acidificación

	<u>Simboli utilizzati</u>
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Limitazioni di temperatura
	Utilizzare entro
LOT	Numero di lotto
REF	Numero di catalogo
CONTROL	Controllo
I V D	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Fabbricante
	Contenuto sufficiente per <n> saggi
WASH SOLN CONC	Tampone di lavaggio concentrato
CAL 0	Calibratore zero
CAL N	Standard #
CONTROL N	Controllo #
Ag 125I	Marcato
Ab 125I	Marcato
Ag 125I CONC	Marcato concentrato
Ab 125I CONC	Marcato concentrato
	Provette
INC BUF	Tampone incubazione
ACETONITRILE	Acetonitrile
SERUM	Siero
DIL SPE	Diluyente campione
DIL BUF	Tampone diluizione
ANTISERUM	Antisiero
IMMUNOADSORBENT	Immunoassorbente
DIL CAL	Diluyente calibratore
REC SOLN	Soluzione di ricostituzione
PEG	Polietilenglicole
EXTR SOLN	Soluzione di estrazione
ELU SOLN	Soluzione di eluizione
GEL	Cartucce di silice bond elut
PRE SOLN	Soluzione di pretrattamento
NEUTR SOLN	Soluzione di neutralizzazione
TRACEUR BUF	Tracer Buffer
TUT	Piastra di microtitolazione
Ab HRP	HRP Coniugato
Ag HRP	HRP Coniugato
Ab HRP CONC	HRP Coniugato concentrato
Ag HRP CONC	HRP Coniugato concentrato
CONJ BUF	Buffer coniugato
CHROM TMB CONC	Cromogena TMB concentrato
CHROM TMB	Soluzione cromogena TMB
SUB BUF	Tampone substrato
STOP SOLN	Soluzione di arresto
INC SER	Incubazione con siero
BUF	Buffer
Ab AP	AP Coniugato
SUB PNPP	Substrato PNPP
BIOT CONJ CONC	Concentrato coniugato con biotina
AVID HRP CONC	Concentrato avidina HRP
ASS BUF	Soluzione tampone per test
Ab BIOT	Coniugato con biotina
Ab	Anticorpo Specifico
SAV HRP CONC	Streptavidina-HRP concentrata
NSB	Legame non-specifico
2nd Ab	2° Anticorpo
ACID BUF	Tampone Acidificante

	<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	Ιζηθέτης
Ab 125I	Ιζηθέτης
Ag 125I CONC	Χρωμογόνος Ιζηθέτης
Ab 125I CONC	Χρωμογόνος Ιζηθέτης
	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
PL	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>Símbolos utilizados</u>
	Consulte instruções de utilização
	Temperatura de conservação
	Utilizar antes de
LOT	Código de lote
REF	Número de catálogo
CONTROL	Controlo
I V D	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Fabricante
	Conteúdo suficiente para <n> testes
WASH SOLN CONC	Solução de lavagem concentrada
CAL 0	Calibrador zero
CAL N	Calibrador #
CONTROL N	Controlo #
Ag 125I	Marcador
Ab 125I	Marcador
Ag 125I CONC	Marcador concentrada
Ab 125I CONC	Marcador concentrada
	Tubos
INC BUF	Tampão de incubação
ACETONITRILE	Acetonitrilo
SERUM	Soro
DIL SPE	Diluidor de espécimes
DIL BUF	Tampão de diluição
ANTISERUM	Anti-soro
IMMUNOADSORBENT	Imunoadsorvente
DIL CAL	Diluyente do calibrador
REC SOLN	Solução de Reconstituição
PEG	Poliétileno-glicol
EXTR SOLN	Solução de Extração
ELU SOLN	Solução de Eluição
GEL	Cartuchos de sílica Bond Elut
PRE SOLN	Solução de pré-tratamento
NEUTR SOLN	Solução de neutralização
TRACEUR BUF	Tampão Marcador
TIT	Placa de micro titulação
Ab HRP	HRP Conjugação
Ag HRP	HRP Conjugação
Ab HRP CONC	HRP Conjugação concentrada
Ag HRP CONC	HRP Conjugação concentrada
CONJ BUF	Conjuge o tampão
CHROM TMB CONC	Cromogénica TMB concentrada
CHROM TMB	Solução Cromogénica TMB
SUB BUF	Tampão de substrato
STOP SOLN	Solução de Paragem
INC SER	Soro de incubação
BUF	Tampão
Ab AP	AP Conjugação
SUB PNPP	Substrato PNPP
BIOT CONJ CONC	Concentrado conjugado de biotina
AVID HRP CONC	Concentrado HRP de avidina
ASS BUF	Tampão de ensaio
Ab BIOT	Conjugado de biotina
Ab	Anticorpo específico
SAV HRP CONC	Estreptavidina HRP concentrado
NSB	Ligações não específicas
2nd Ab	Anticorpo secundário
ACID BUF	Tampão de acidificação