



Urinary hGH-IRMA

KIP1131

Read entire protocol before use.

Urinary hGH-IRMA

I. INTENDED USE

Immunoradiometric assay kit for the *in vitro* quantitative measurement of human Growth Hormone (hGH) in urine.

II. GENERAL INFORMATION

- A. **Proprietary name :** DIAsource Urinary hGH-IRMA Kit
- B. **Catalog number :** KIP1131: 25 tests
- C. **Manufactured by :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

For technical assistance or ordering information contact :
Tel : +32 (0)67 88.99.99 Fax : +32 (0)67 88.99.96

III. CLINICAL BACKGROUND

A. Biological Activity

hGH is a polypeptide hormone (molecular weight 21,500 Da) produced by the acidophil cells of the anterior pituitary under the control of two main substances from the median eminence : Growth-hormone Releasing Factor (GRF) and an inhibitory agent, somatostatin. Dopaminergic, adrenergic and serotonergic neuroendocrine pathways also play an important role in the control of hGH secretion. Excitatory stimuli of hGH secretion include hypoglycemia, exercise, fasting, meals with a high protein content, deep sleep, stress, glucagon, L Dopa, amino acids, etc. Inhibitory stimuli include glucose, cortisol, hGH and free fatty acids.

Because of its short plasma half life (± 25 minutes) and of the frequent excitatory or inhibitory stimuli, hGH displays frequent and large variations of concentration in serum. One of the main physiological functions of hGH is to act on the liver and other tissues to produce somatomedins, which in turn induce growth by direct action on target tissues. In contrast to hGH, the concentration of somatomedin in serum is kept stable by virtue of being largely bound to circulating plasma proteins.

B. Clinical Application

It is known that serum growth hormone (GH) concentrations can fluctuate greatly due to large day-to-day variability of GH secretion. The most predictable GH peaks occurs about one hour after onset of sleep. GH release during the day is very pulsative: for this reason a simple blood collection provides no reliable information on GH secretion. It has been suggested that sensitive urinary Growth Hormone determination, based on 24 hours urine collection might reflect central GH secretion and therefore can help in the reliable measurement of GH secretion which is necessary in several pathological settings as. Overnight collection reflects the major episodes of secretion of growth hormone during slow wave sleep and avoids the effect of physiological during the day. There is a good correlation between the u-HGH values and the integrated serum HGH values during a 12-h or 24-h profile (ref 5,7) and between the serum and u-HGH values during provocation tests (ref 10,11) . Also when serum values are high as in gigantism or acromegaly u-HGH values are high too (ref 10,15) The concentration of HGH in urine is only about 0.01% of that in serum but such levels can now be measured with the use of monoclonal antibodies bound to a solid phase as demonstrated first by Girard et al. in Basle (ref 6) and it seems that these very low concentrations do, in fact, have physiological significance.

· **Growth retardation**

hGH hyposecretion is one of the various causes of small stature in children.

· **Gigantism and acromegaly**

hGH hypersecretion due to acidophilic pituitary tumour. This results in gigantism in children and acromegaly in adults. Both of these disorders may be treated by surgery or radiation.

IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

The Urinary-hGH-IRMA is an immunoradiometric assay based on coated-bead separation. Mab1, the capture antibodies, are attached to the plastic beads. Calibrators, controls and samples are first incubated with the beads to extract the hGH. After incubation, washing removes the occasionally excess of antigen. Addition of Mab2, the signal antibody labelled with ¹²⁵I, will complete the system and trigger the immunological reaction. After washing, the remaining radioactivity bound to the beads reflects the antigen concentration.

V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	Quantity 25 tests	Colour Code	Reconstitution
BEAD Beads coated with anti hGH (monoclonal antibodies)	100	white	Ready for use
Ab125I CONC Anti-hGH-¹²⁵I (monoclonal antibodies) in Phosphate Buffer with bovine albumin and sodium azide (0.05 %)	1 vial 0.6 ml 380 kBq	red	Dilute 51x with Tracer Buffer (see section VII. C)
TRACER BUF Tracer Buffer: Borate Buffer with bovine casein, bovine serum, EDTA and azide (0.05%)	1 vial 26 ml	black	Ready for use
CAL N Calibrators 1-5 in human serum with thymol (see exact values on vial labels)	5 vials lyophil.	yellow	Add 1 ml distilled water
DIL CAL Calibrator Diluent in Phosphate Buffer with bovine serum and sodium azide (< 0.1%)	1 vial 100 ml	blue	Ready for use
DIL BUF Diluent Buffer: Phosphate Buffer Saline with azide (0.05%)	1 vial powder	green	Dissolve in 300 ml distilled water (use a magnetic stirrer).
WASH SOLN CONC Wash solution (TRIS-HCl)	1 vial 10 ml	brown	Dilute 70x with distilled water (use a magnetic stirrer).
CONTROL N Controls 1 and 2 in Phosphate buffer with bovine albumin and thymol	2 vials lyophil.	silver	Add 11 ml Calibrator Diluent
Glass vials (26x45 mm) with caps for extraction	25 vials	white	Ready for extraction

Note: 1 pg of the calibrator preparation is equivalent to 1 pg of NIBSC 2nd IS98/574

VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

The following material is required and available at DIAsource :

1. Vial shaker (IKA Vibrax 300 rpm) N° art. 4300004.
2. Vial extraction insert N° art. 4300606 to use in combination with the vial shaker

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

1. Distilled water
2. Pipettes for delivery of: 100 µl, 200 µl, 1 ml and 10 ml. (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
3. Vortex mixer
4. Magnetic stirrer
5. Plastic tube (12x75)
6. 5 ml automatic syringe (Cornwall type) for washing
7. Aspiration system

8. Any gamma counter capable of measuring ¹²⁵I may be used (minimal yield 70%).

VII. REAGENT PREPARATION

- A. Calibrators : Reconstitute the calibrators with 1 ml distilled water.
- B. Controls : Reconstitute the controls with 11 ml Calibrator Diluent.
- C. Tracer : Prepare an adequate volume of Tracer solution by adding 20 µl of Anti-hGH-¹²⁵I to 1 ml of Tracer Buffer. Use a vortex to homogenize.
- D. Diluent Buffer : Transfer quantitavely the Diluent Buffer powder into 300 ml distilled water Use a magnetic stirrer to homogenize..
- E. Working Wash solution : Prepare an adequate volume of Working Wash solution by adding 69 volumes of distilled water to 1 volume of Wash Solution (70x). Use a magnetic stirrer to homogenize. Discard unused Working Wash solution at the end of the day.

VIII. STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS

- Before opening or reconstitution, all kit components are stable until the expiry date, indicated on the label, if kept at 2 to 8°C; except the Diluent Buffer, it must be stored at room temperature.
- After reconstitution, the calibrators are stable for one week at 2 to 8°C. For longer storage periods, aliquots should be made and kept at -20°C for maximum 3 months. Avoid successive freezing and thawing.
- Freshly prepared Working Wash solution should be used on the same day.
- After its first use, Tracer solution is stable until expiry date, if kept in the original well-closed vial at -20°C.
- After reconstitution, the Diluent Buffer is stable for one month at room temperature.
- Alterations in physical appearance of kit reagents may indicate instability or deterioration.

IX. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- Urine samples must be kept at 2-8°C.
- If the test is not run within 24 hours, storage in aliquots at -20°C is recommended.
- Avoid successive freezing and thawing

X. PROCEDURE

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

B. Procedure

- I. Extraction step :
1. Label glass vial (26x45 mm) in single for extraction : 1 NSB, 5 calibrators, 2 controls and up to 17 samples.
2. Add 10 ml of Calibrator Diluent into the NSB vial.
3. Add 10 ml of Calibrator Diluent and 100 µl of each calibrator into the respective vials
4. Add 10 ml control or sample in the respective vial.
5. Dispense 10 ml of Diluent Buffer in each vial (NSB, calibrators, controls and samples).
6. Put four beads in each vial.
7. Close the vials with a cap and incubate overnight on a vial shaker at 300 rpm (supplied by DIAsource under the art. 4300004). The foam including the extraction vials can be directly inserted into the vial extraction insert (available from DIAsource under the art. 4300606) and used on the vial shaker.
8. Aspirate the content of each vial. Be sure that the plastic tip of the aspirator reaches the bottom of the vial in order to remove all the liquid.
9. Wash the vials with 6 ml Working Wash solution.
10. Aspirate the content of each vial.
11. Wipe gently the beads on absorbing paper and transfer the beads in the corresponding plastic tubes.

II. Incubation step :

12. Label plastic tubes (12 x 75 mm) in duplicate for each calibrator. For the determination of total count, label 2 tubes.
13. Put two beads in each tube for NSB, calibrators, controls and samples.
14. Dispense 500 µl of the Tracer solution in each tube (calibrators, controls and samples) including the tubes for total counts.
15. Shake the tube rack gently by hand to liberate any trapped air bubbles.
16. Incubation 18 to 24 hours at room temperature.

17. Aspirate the content of each tube. Be sure that the plastic tip of the aspirator reaches the bottom of the tube in order to remove all the liquid.
18. Wash tube with 2 ml Working Wash solution (except total counts) and aspirate. Avoid foaming during the addition of Working Wash solution.
19. Aspirate the content of each tube (except total counts).
20. Wash tubes again with 2 ml Working Wash solution (except total counts) and aspirate.
21. After the washing, let the tubes stand upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
22. Count tubes in a gamma counter for 60 seconds.

XI. CALCULATION OF RESULTS

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

XII. TYPICAL DATA

The following data are for illustration only and should never be used instead of the real time calibration curve.

Urinary hGH-IRMA		cpm	B/T (%)
Total count		273476	100
NSB		549	0.2
Calibrator	1.65 ng/L	1735	0.6
	4.95 ng/L	3350	1.2
	16.00 ng/L	10924	3.9
	49.50 ng/L	26732	9.5
	215.00 ng/L	89325	31.7

XIII. PERFORMANCE AND LIMITATIONS

A. Detection Limit

Twenty zero calibrators were assayed along with a set of other calibrators. The detection limit, defined as the apparent concentration two standard deviations above the average counts at zero binding, was 0.42 ng/L.

B. Specificity

Some potentially interfering hormones have been tested in this assay. None of the following hormones showed significant interference :
 - hCG 300000 mIU/ml
 - hPL 50000 ng/ml
 - PRL 2000 ng/ml

C. Precision

INTRA ASSAY				INTER ASSAY			
Urine	N	<X> ± SD (ng/L)	CV (%)	Urine	N	<X> ± SD (ng/L)	CV (%)
A	20	9.79± 0.86	8.7	D	10	9.36 ± 0.81	8.6
B	20	6.15 ± 0.54	8.8	E	10	103.27 ± 7.49	7.3

SD : Standard Deviation; CV: Coefficient of variation

D. Accuracy

RECOVERY TEST			
Sample	Added hGH (ng/L)	Recovered hGH (ng/L)	Recovery (%)
1	50.00	46.35	92.5
	16.00	14.87	92.9
	4.95	4.58	92.7

DILUTION TEST			
Sample	Dilution	Theoretical Concent. (ng/L)	Measured Concent. (ng/L)
1	1/1	-	135.03
	1/2	67.52	68.78
	1/5	27.01	25.69

Samples were diluted with calibrator diluent.

XIV. LIMITATIONS

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

XV. INTERNAL QUALITY CONTROL

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

XVI. REFERENCE INTERVALS

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

Normal subjects	Mean (ng/24h)	Range (ng/24h)	N
All subjects	1.91	0.42 – 4.61	50

Remark : the range is based on 2.5 % and 97.5 % percentiles.

XVII. PRECAUTIONS AND WARNINGS

Safety

For *in vitro* diagnostic use only.
 This kit contains ¹²⁵I (half-life: 60 days), emitting ionizing X (28 keV) and γ (35.5 keV) radiations.
 This radioactive product can be transferred to and used only by authorized persons; purchase, storage, use and exchange of radioactive products are subject to the legislation of the end user's country. In no case the product must be administered to humans or animals.
 All radioactive handling should be executed in a designated area, away from regular passage. A 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 accordance with local safety procedures.
 All animal products and derivatives have been collected from healthy animals. Bovine components originate from countries where BSE has not been reported. Nevertheless, components containing animal substances should be treated as potentially infectious.
 Avoid any skin contact with reagents (sodium azide as preservative). Azide in this kit may react with lead and copper in the plumbing and in this way form highly explosive metal azides. During the washing step, flush the drain with a large amount of water to prevent azide build-up.
 Do not smoke, drink, eat or apply cosmetics in the working area. Do not pipette by mouth. Use protective clothing and disposable gloves.

XVIII. BIBLIOGRAPHY

1. BUTLER J.
Biochemical tests of growth hormone status in short children.
Ann. Clin. Biochem. 2001; 38:1-2.
2. EVANS A J.
Screening tests for growth hormone deficiency.
Journal of the Royal society of medicine. 1995; 88:161-165.
3. BERCU BB, SHULMAN D, ROOT AW, SPILIOTIS BE.
Growth hormone (GH) provocative testing frequently does not reflect endogenous GH secretion.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 1986; 63:709-716.
4. ZADIK Z, CHALEW MD, GILULA Z, KOWARSKI AA.
Reproducibility of growth hormone testing procedures : a comparaisn between 24-hour integrated concentration and pharmacological stimulation.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 1990; 71:1127-1130.
5. LARCEY KA, HEWISON A, PARKIN JM
Exercise as a screening test for growth hormone deficiency in children.
Arch. Dis. Child. 1973; 48:508-512.
6. GIRARD J, ERB T, PAMPALONE A, EBERLE AN, BAUMANN JB.
Growth hormone in urine : development of an ultrasensitive assay applicable to plasma and urine.
Horm. Res.. 1987; 28:71-80.
7. ALBINI CH, SOTOS J, SHERMAN B, JOHNSON, et al.
Diagnostic significance of urinary growth hormone measurements in children with growth failure : correlation between serum and urine growth hormone.
Pediatr. Res. 1991; 29:619-622.
8. EDGE JA, HOURD P, EDWARDS R, DUNGER DB.
Urinary growth hormone during puberty in normal and diabetic children.
Clin. Endocrinol. 1989; 30:413-420.
9. OKUNO A, YANO K, ITOH T, et al.
Urine growth hormone determinations compared with other methods in the assessment of growth hormone secretion.
Acta. Paed. Scand. 1987; 337(suppl):74-81.
10. SUKEGAWA I, HIZUKA N, TAKANO K, et al.
Measurement of nocturnal urinary growth hormone values.
Acta. Endocrinol. 1989; 121:290-296.
11. EVANS AJ, WOOD PJ.
Development of an assay for human growth hormone in urine using commercially available reagents.
Ann. Clin. Biochem. 1989; 26:353-357.
12. HOURD P, EDWARDS R.
Measurement of human growth hormone in urine : development and validation of a sensitive and specific assay.
J. Endocrinol. 1989; 121:167-175.
13. HASHIDA S, ISHIKAWA E, KATO T, et al.
Human growth hormone (hGH) in urine and its correlation to serum hGH examined by a highly sensitive sandwich enzyme immunoassay.
Clin. Chim. Acta. 1987; 162:229-235.
14. GIRARD J, FISHER-WASELS T.
Measurement of urinary growth hormone.
Horm. Res. 1990; 33(suppl4):12-18.
15. EVANS AJ, WILLIS DS, WOOD PJ.
The assay of urinary growth hormone in normal and acromegalic adults.
Clin. Endocrinol. 1991; 35:413-418.
16. WALKER JM, WILLIAMSON S, BETTS PR, EVANS AJ, WOOD PJ.
Urinary growth hormone excretion as a screening test for human growth deficiency.
Arch. Dis. Child. 1990; 65:89-92.
17. TOMITA H, OGAWA M, KOMIJO T, et al.
A highly sensitive sandwich enzyme immunoassay of urinary growth hormone in children with short stature, Turner's syndrome and simple obesity.
Acta. Endocrinol. 1989; 121:513-519.

18. HASHIDA S, ISHIKAWA E, NAKAGAWA K, et al.
Level of human growth hormone (hGH) in urine determined by a highly specific and sensitive sandwich enzyme immunoassay.
Anal. Leut. 1986; 19:625-638.
19. CROWNE EC, WALLACE WHB, SHALET SM, ADDISON GM, PRICE DA.
Relationship between urinary and serum growth hormone and pubertal status.
Arch. Dis. Child. 1991; 67:91-95.
20. PRICE DA, ADDISON GM, HERBERT ED.
Increase in urinary growth hormone excretion in puberty.
Arch. Dis. Child. 1990; 65:1203-1204.
21. HATTORI N, KATO Y, MURAKAMI Y, et al.
Urinary growth hormone levels measured by ultrasensitive enzyme immunoassay in patients with renal insufficiency.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 1988; 66:727-732.
22. TASSONI P, CACCIARI E, CAU M, et al.
Variability of growth hormone response to pharmacological and sleep tests performed twice in short children.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 1990; 71:230-234.
23. FORNITO MC, CALOGERO AE, MANGIOI A, et al.
Intra- and inter-individual variability in growth hormone responses to growth hormone releasing 164P hormone.
J. Neuroendocrinol. 1990; 2:87-90.
24. MAIN K, JARDEN M, LOTTE A, DINESEN B, HERTEL T, JUUL A, MJLLER J, SKAKKEBAEK N.
The impact of gender and puberty on reference values for urinary growth hormone excretion : a study of 3 morning urine samples in 517 children and adults
J. Clin. Endocrinol. Metab.. 1994; 79:865-871.

XIX. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	TOTAL COUNTS ml	NSB ml	CALIBRATORS ml	SAMPLE(S) CONTROLS ml
Extraction				
Calibrator Diluent	-	10 ml	10 ml	-
Calibrators (1-5)	-	-	100 µl	-
Controls, samples	-	-	-	10 ml
Diluent Buffer	-	10 ml	10 ml	10 ml
Beads	-	4 beads	4 beads	4 beads
Incubation	Overnight at room temperature with shaking at 300 rpm			
Separation	-	aspirate		
Washing solution	-	6.0 ml		
Separation	-	aspirate		
Incubation				
Extracted NSB	-	2 beads	2 beads	2 beads
Calibrators, controls and samples				
Tracer	0.5	0.5	0.5	0.5
Incubation	18 - 24 hours at room temperature			
Separation	-	aspirate		
Washing solution	-	2.0 ml		
Separation	-	aspirate		
Washing solution	-	2.0 ml		
Separation	-	aspirate		
Counting	Count tubes for 60 seconds			

DIASource Catalogue Nr : KIP1131	P.I. Number : 1700440/en	Date of issue : 101021/1
-------------------------------------	-----------------------------	-----------------------------

Lire entièrement le protocole avant utilisation.

Urinary hGH-IRMA

I. BUT DU DOSAGE

Trousse de dosage radio-immunométrique pour la mesure quantitative *in vitro* de l'hormone de croissance (hGH) dans l'urine.

II. INFORMATIONS GÉNÉRALES

- A. **Nom du produit :** DIAsource Urinary hGH-IRMA Kit
- B. **Numéro de catalogue :** KIP1131: 25 tests
- C. **Fabriqué par :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8 B-1400 Nivelles Belgium.

Pour une assistance technique ou une information sur une commande :

Tel : +32 (0)67 88.99.99

Fax : +32 (0)67 88.99.96

III. CONTEXTE CLINIQUE

A. Activités biologiques

L'hGH est une hormone polypeptidique (poids moléculaire 21 500 Da) produite par les cellules acidophiles de l'hypophyse antérieure sous contrôle de deux substances principales secrétées par l'éminence médiane : le facteur de libération de l'hormone de croissance (GHRF) et un agent inhibiteur, la somatostatine. Les voies neuro-endocrines dopaminergiques, adrénergiques et sérotoninergiques jouent également un rôle important dans le contrôle de la sécrétion de l'hGH. Les stimuli excitateurs de la sécrétion d'hGH comprennent l'hypoglycémie, le sport, le jeûne, les repas riches en protéines, le sommeil profond, le stress, le glucagon, la L-dopa, les acides aminés, etc. Les stimuli inhibiteurs comportent le glucose, le cortisol, l'hGH et les acides gras libres. Du fait de sa courte demi-vie (± 25 minutes) et de la fréquence des stimuli excitateurs ou inhibiteurs, la concentration de l'hGH varie fréquemment et de façon irrégulière dans le sérum.

Une des principales fonctions physiologiques de l'hGH est d'agir sur le foie et d'autres tissus pour produire les somatomédines qui induisent, à leur tour, la croissance par action directe sur les tissus cibles. À la différence de l'hGH, la concentration en somatomédine du sérum reste stable car elle est en grande partie liée aux protéines plasmatiques circulantes.

B. Application clinique

L'on sait que la sécrétion journalière de l'hormone de croissance (hGH) montre une variabilité importante entraînant des variations considérables des concentrations sériques. Le pic en GH le plus prévisible se produit une heure après le début du sommeil. La libération de la GH pendant la journée étant très pulsative, le prélèvement d'un seul échantillon de sang ne donne pas d'information fiable sur la sécrétion de la GH. L'on a suggéré que la détermination, sensible, de l'hormone de croissance urinaire sur les urines de 24 heures peut refléter la sécrétion centrale de la GH et ainsi donner une mesure fiable de la sécrétion de la GH, mesure nécessaire dans de nombreuses pathologies. Les urines de la nuit reflètent les principaux épisodes de la sécrétion de l'hormone de croissance pendant les phases de sommeil lent et évite l'effet de la variation physiologique se produisant au cours de la journée. Il existe une bonne corrélation entre les valeurs de l'hGH urinaire et les valeurs intégrées de l'hGH sérique sur un profil de 12 ou de 24 heures (réf. 5, 7) et entre les valeurs en hGH sériques et urinaires lors des tests de provocation (réf. 10, 11). De plus, lorsque les valeurs sériques sont élevées, comme dans le gigantisme ou l'acromégalie, les valeurs en hGH urinaire sont également élevées (réf. 10, 15). La concentration en hGH dans l'urine ne représente qu'environ 0,01% de celle dans le sérum, mais il est possible de mesurer de tels taux en utilisant des anticorps monoclonaux fixés sur une phase solide, comme Girard et al. ont été les premiers à le démontrer à Bâle (réf. 6), et il semble que ces concentrations très faibles ont, en fait, une signification physiologique.

· Retard de croissance

L'hyposécrétion d'hGH est l'une des différentes causes d'une petite taille chez les enfants.

· Gigantisme et acromégalie

Hypersécrétion d'hGH due à une tumeur pituitaire acidophile. Elle entraîne un gigantisme chez les enfants et une acromégalie chez les adultes. Les deux dysfonctionnements peuvent être traités par chirurgie ou radiothérapie.

IV. PRINCIPE DU DOSAGE

La trousse Urinary-hGH-Irma est une trousse de dosage radio-immunométrique basé sur la séparation en bille recouvert d'anticorps. Les AcM1, anticorps de capture, sont fixés sur des billes en plastique. Les calibrateurs, contrôles et échantillons sont d'abord incubés avec les billes afin d'extraire l'hGH. Après incubation, l'excès éventuel d'antigène est éliminé par une étape de lavage. L'addition de AcM2, l'anticorps signal marqué à l'I¹²⁵, complètera le système et déclenchera la réaction immunologique. Suite au lavage, la radioactivité restante liée aux billes reflètera la concentration en antigène.

V. RÉACTIFS FOURNI

Réactifs	Quantité 25 tests	Code de couleur	Reconstitution
BEAD Billes tapissés d’anti-hGH (anticorps monoclonaux)	100	bleu	Prêtes à l’emploi
Ab125I anti-hGH marqués à l’Iode¹²⁵ (anticorps monoclonaux) dans un tampon phosphate avec de l’albumine bovine, de l’azoture de sodium (0,05 %)	1 flacon 0,6 mL 380 kBq	rouge	Diluer 51x avec le tampon du traceur (voir section VII. C)
TRACER BUF Tampon du traceur : tampon borate contenant de la caséine bovine, de la sérum-albumine bovine et de l’azoture de sodium (0.05%)	1 flacon 26 mL	noir	Prêt à l’emploi
CAL N Calibrateur 1 à 5 dans du sérum humain avec du thymol (voir les valeurs exactes sur l’étiquette des flacons)	5 flacons lyophilisés	jaune	Ajouter 1 mL d’eau distillée
DIL CAL Diluant des calibrateurs dans un tampon phosphate contenant de la sérum-albumine bovine et de l’azoture de sodium (< 0,1%)	1 flacon 100 mL	bleu	Prêt à l’emploi
DIL BUF Tampon de dilution : tampon phosphate salin contenant de l’azoture (0,05%)	1 flacon de poudre	vert	Dissoudre dans 300 mL d’eau distillée (utiliser un agitateur magnétique).
WASH SOLN CONC Solution de Lavage (TRIS-HCl)	1 flacon 10 mL	brun	Diluer 70 x avec de l’eau distillée (utiliser un agitateur magnétique).
CONTROL N Contrôles 1 et 2 dans un tampon phosphate avec de l’albumine bovine et du thymol.	2 flacons lyophilisés.	gris	Ajouter 11 mL de diluants des calibrateurs
Flacons en verre (26x45 mm) pour l'extraction, avec bouchon	25 flacons	blanc	Prêts à être utilisés pour l'extraction

Note: 1 pg de la préparation du calibrateur est équivalent à 1 pg NIBSC 2^{ème} IS 98/574.

VI. MATÉRIEL NON FOURNI

Le matériel suivant est requis et est disponible chez DIASource :

- Agitateur pour flacons (IKA Vibrax 300 tpm) N° d'art. 4300004.
- Turbulent pour flacons d'extraction N° d'art. 4300606, à utiliser en combinaison avec l'agitateur pour flacons.

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

- Eau distillée
- Pipettes pour distribuer : 100 µL, 200 µL, 1 mL et 10 mL (l'utilisation de pipettes précises et de pointes en plastique est recommandée)
- Agitateur vortex
- Agitateur magnétique
- Tube en plastique (12x75)
- Seringue automatique de 5 ml (type Cornwall) pour les lavages
- Système d'aspiration

- Tout compteur gamma capable de mesurer l'I¹²⁵ peut être utilisé (rendement minimum 70%).

VII. PRÉPARATION DES RÉACTIFS

- Calibrateurs** : Reconstituer les calibrateurs avec 1 mL d’eau distillée.
- Contrôles** : Reconstituer les contrôles avec 11 mL de diluant des calibrateurs.
- Traceur** : préparer un volume adéquat de solution du traceur en ajoutant 20 µl d'anti-hGH-I¹²⁵ à 1 mL de tampon du traceur. Utiliser un vortex pour homogénéiser.
- Tampon de dilution** : transférer quantitativement la poudre du tampon de dilution dans 300 mL d'eau distillée. Utiliser un agitateur magnétique pour homogénéiser.
- Solution de lavage** de travail : Préparer un volume adéquat de solution de lavage de travail en ajoutant 69 volumes d’eau distillée à 1 volume de solution de lavage (70x). Utiliser un agitateur magnétique pour homogénéiser. Éliminer la solution de lavage non utilisée à la fin de la journée.

VIII. STOCKAGE ET DATE D'EXPIRATION DES RÉACTIFS

- Avant l’ouverture ou la reconstitution, tous les composants de la trousse sont stables jusqu’à la date d’expiration, indiquée sur l’étiquette, si la trousse est conservée entre 2 et 8°C, excepté le tampon de dilution qui doit être conservé à température ambiante.
- Après reconstitution, les calibrateurs sont stables pendant 7 jours entre 2 et 8°C. Pour de plus longues périodes de stockage, des aliquotes devront être réalisées et celles-ci seront gardées à -20°C pendant 3 mois au maximum. Éviter des cycles de congélation et décongélation successifs.
- La solution de lavage de travail fraîchement préparée doit être utilisée le jour même.
- Après la première utilisation, la solution du traceur est stable jusqu’à la date d’expiration, si celle-ci est conservée à -20°C dans le flacon d’origine correctement fermé.
- Après reconstitution, le tampon de dilution est stable pendant un mois à température ambiante.
- Des altérations dans l’apparence physique des réactifs de la trousse peuvent indiquer une instabilité ou une détérioration.

IX. PRÉPARATION ET STABILITÉ DE L'ÉCHANTILLON

- Les échantillons d'urine doivent être gardés entre 2 et 8°C.
- Si le test n’est pas réalisé dans les 24 heures, il est recommandé de conserver les échantillons en aliquotes à -20°C.
- Éviter des cycles de congélation et décongélation successifs.

X. MODE OPÉRATOIRE

- Notes de manipulation**
Ne pas utiliser la trousse ou ses composants après la date d’expiration. Ne pas mélanger du matériel provenant de trousses de lots différents. Porter tous les réactifs à température ambiante avant utilisation.
Bien mélanger tous les réactifs et les échantillons par agitation douce ou agitation magnétique. Pour éviter toute contamination croisée, utiliser une nouvelle pointe de pipette jetable pour l’addition de chaque réactif et échantillon.
Des pipettes de haute précision ou un équipement de pipetage automatique permettent d’augmenter la précision. Respecter les temps d’incubation. Préparer une courbe de calibration pour chaque nouvelle série d’analyses, ne pas utiliser les données d’analyses précédentes.

B. Mode opératoire

- Étape d'extraction :**
 - Étiqueter en simple des flacons en verre (26 x 45 mm) pour l'extraction : 1 NSB (tube de liaisons non spécifique), 5 calibrateurs, 2 contrôles et jusqu'à 17 échantillons.
 - Ajouter 10 mL de diluant des calibrateurs dans le tube NSB
 - Ajouter 10 mL de diluant des calibrateurs et 100 µL de chaque calibrateur dans les flacons correspondants.
 - Ajouter 10 mL de contrôle ou d'échantillon dans les flacons correspondants.
 - Distribuer 10 mL de tampon de dilution dans chacun des flacons (NSB, calibrateurs, contrôles et échantillons).
 - Mettre quatre billes dans chacun des flacons.
 - Fermer les flacons avec un bouchon et incubé pendant une nuit sur un agitateur pour flacons à 300 tpm. (fourni par DIASource sous le numéro d'article 4300004). La mousse contenant les flacons d'extraction peut être directement mise sur le turbulent pour flacons d'extraction (disponible chez DIASource sous le numéro d'article 4300606) et être utilisée sur l'agitateur pour flacons.
 - Aspirer le contenu de chaque flacon. Assurez-vous que la pointe en plastique utilisée pour aspirer le liquide des flacons atteint le fond de chacun d’eux pour éliminer toute trace de liquide.
 - Laver le flacon avec 6 mL de solution de lavage de travail.

- Aspirer le contenu de chaque flacon.
- Essuyer doucement les billes sur un papier absorbant et les transférer dans les tubes en plastiques correspondants.

II. Étape d'incubation :

- Étiqueter des tubes en plastique (12 x 75 mm) en double pour chacun des calibrateurs. Pour la détermination de l’activité totale, étiqueter 2 tubes.
- Mettre deux billes dans chacun des tubes de NSB, calibrateurs, contrôles et échantillons.
- Distribuer 500 µL de solution du traceur dans chacun des tubes (calibrateurs, contrôles et échantillons), y compris les tubes pour l'activité totale.
- Agiter légèrement le portoir de tubes manuellement pour libérer toute bulle d’air emprisonnée.
- Incuber 18 à 24 heures à température ambiante.
- Aspirer le contenu de chaque tube. Assurez-vous que la pointe en plastique utilisée pour aspirer le liquide des tubes atteint le fond de chacun d’eux pour éliminer toute trace de liquide.
- Laver les tubes avec 2 mL de solution de lavage de travail (à l’exception des tubes utilisés pour la détermination de l’activité totale) et aspirer. Éviter la formation de mousse pendant l’addition de la solution de lavage de travail.
- Aspirer le contenu de chaque tube (à l’exception des tubes utilisés pour la détermination de l’activité totale).
- Laver les tubes à nouveau avec 2 mL de solution de lavage de travail (à l’exception des tubes utilisés pour la détermination de l’activité totale) et aspirer.
- Après le dernier lavage, laisser reposer les tubes en position verticale pendant 2 minutes et aspirer le reste de liquide.
- Placer les tubes dans un compteur gamma pendant 60 secondes pour quantifier la radioactivité.

XI. CALCUL DES RÉSULTATS

- Calculer la moyenne de chaque détermination réalisée en double.
- Porter sur un papier graphique linéaire ou semi-logarithmique les cpm (ordonnées) pour chaque calibrateur en fonction de la concentration correspondante en hGH urinaire (abscisses) et dessiner une courbe de calibration à l’aide des points de calibration, écarter les valeurs aberrantes.
- Lire la concentration pour chaque contrôle et échantillon par interpolation sur la courbe de calibration.
- L’analyse informatique des données simplifiera les calculs. Si un traitement automatique des résultats est utilisé, il est recommandé d’utiliser une fonction « 4 paramètres » de lissage de courbes.

XII. DONNÉES TYPES

Les données représentées ci-dessous sont fournies pour information et ne peuvent jamais être utilisées à la place d’une courbe de calibration faite en temps réel.

Urinary hGH-IRMA		cpm	B/T (%)
Activité totale		273476	100
NSB		549	0,2
Calibrateur	1,65 ng/L	1735	0,6
	4,95 ng/L	3350	1,2
	16,00 ng/L	10924	3,9
	49,50 ng/L	26732	9,5
	215,00 ng/L	89325	31,7

XIII. PERFORMANCE ET LIMITES DU DOSAGE

A. Sensibilité

Vingt calibrateurs zéro ont été testés en parallèle avec un assortiment d’autres calibrateurs. La limite de détection, définie comme la concentration apparente située 2 écarts-types au-dessus de la moyenne déterminée pour la liaison zéro, était de 0,42 ng/L.

B. Spécificité

Certaines hormones qui pourraient interférer avec le dosage ont été testées avec cet essai. Aucune des hormones suivantes n'a montré une interférence significative :
- hCG 300000 mIU/mL
- hPL 50000 ng/mL
- PRL 2000 ng/mL

C. Précision

INTRA-ESSAI				INTER-ESSAI			
Urine	N	<X> ± SD (ng/L)	CV (%)	Urine	N	<X> ± SD (ng/L)	CV (%)
A	20	9,79± 0,86	8,7	D	10	9,36 ± 0,81	8,6
B	20	6,15 ± 0,54	8,8	E	10	103,27 ± 7,49	7,3

SD : Écarts-types ; CV : Coefficient de variation

D. Exactitude

TEST DE RÉCUPÉRATION			
Échantillon	hGH ajoutée (ng/L)	hGH récupérée (ng/L)	Récupération (%)
1	50,00	46,35	92,5
	16,00	14,87	92,9
	4,95	4,58	92,7

TEST DE DILUTION			
Échantillon	Dilution	Concent. théorique (ng/L)	Concent. mesurée (ng/L)
1	1/1	-	135,03
	1/2	67,52	68,78
	1/5	27,01	25,69

L’échantillon a été dilué avec le diluant des calibrateurs.

XIV. LIMITATIONS

- Les échantillons de patients ayant reçu des préparations d'anticorps monoclonaux de souris pour un diagnostic ou comme traitement peuvent contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA). De tels échantillons peuvent montrer des valeurs soit faussement élevées soit faussement basses lorsqu'ils sont analysés avec des troussees d'analyses utilisant des anticorps monoclonaux de souris.
- Des anticorps hétérophiles dans le sérum humain peuvent réagir avec le réactif immunoglobulines, interférant ainsi avec les méthodes d'analyse immunologiques in vitro.
Les patients couramment en contact avec des animaux ou des produits de sérum animal peuvent être sujets à ces interférences. Des valeurs anormales peuvent être observées en cas de présence d'anticorps hétérophiles. Évaluer soigneusement les résultats des patients suspectés d'avoir ces anticorps.
Si les résultats ne sont pas cohérents avec les autres observations cliniques, des informations supplémentaires doivent être demandées avant de poser le diagnostic.

XV. CONTRÔLE DE QUALITÉ INTERNE

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

XVI. VALEURS ATTENDUES

Les valeurs reprises ci-dessous sont données à titre d’information ; chaque laboratoire doit établir ses propres fourchettes de valeurs normales.

Sujets normaux	Moyenne (ng/24h)	Fourchette (ng/24h)	N
Tous les sujets	1.91	0.42 – 4.61	50

Remarque : la fourchette est basée sur les percentiles 2,5 % et 97,5 %.

XVII. PRÉCAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

Sécurité

Pour une utilisation en diagnostic *in vitro* uniquement.
Cette trousse contient de l'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 pourraient être contaminés par des substances radioactives, doivent être isolés afin d'éviter la contamination croisée de plusieurs isotopes.
Toute contamination ou perte de substance radioactive doit être immédiatement nettoyée conformément aux procédures de radio sécurité. Les déchets radioactifs doivent être éliminés de manière à respecter les réglementations locales en vigueur et les directives de la juridiction dont dépend le laboratoire. 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 l'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 l'hépatite, le sida ou toute autre infection. Donc, le traitement des réactifs, des échantillons de sérum ou de plasma devront être conformes aux procédures locales de sécurité.
Tous les produits animaux et leurs dérivés ont été collectés chez des 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.
Éviter tout contact des réactifs avec la peau (de l'azoture de sodium est utilisé comme agent conservateur). L'azoture de cette trousse peut réagir avec le plomb et le cuivre des tuyauteries et former des azotures métalliques hautement explosifs. Lors de l'étape de lavage, rincer les canalisations abondamment à l'eau pour éviter l'accumulation d'azoture.
Ne pas fumer, ni boire, ni manger, ni appliquer de produits cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des vêtements protecteurs et des gants à usage unique.

XVIII. BIBLIOGRAPHIE

1. BUTLER J. **Biochemical tests of growth hormone status in short children.** Ann. Clin. Biochem. 2001; 38:1-2.

2. EVANS A J. **Screening tests for growth hormone deficiency.** Journal of the Royal society of medicine. 1995; 88:161-165.

3. BERCU BB, SHULMAN D, ROOT AW, SPILIOTIS BE. **Growth hormone (GH) provocative testing frequently does not reflect endogenous GH secretion.** J. Clin. Endocrinol. Metab. 1986; 63:709-716.

4. ZADIK Z, CHALEW MD, GILULA Z, KOWARSKI AA. **Reproducibility of growth hormone testing procedures : a comparaison between 24-hour integrated concentration and pharmacological stimulation.** J. Clin. Endocrinol. Metab. 1990; 71:1127-1130.

5. LARCEY KA, HEWISON A, PARKIN JM **Exercise as a screening test for growth hormone deficiency in children.** Arch. Dis. Child. 1973; 48:508-512.

6. GIRARD J, ERB T, PAMPALONE A, EBERLE AN, BAUMANN JB. **Growth hormone in urine : development of an ultrasensitive assay applicable to plasma and urine.** Horm. Res.. 1987; 28:71-80.

7. ALBINI CH, SOTOS J, SHERMAN B, JOHNSON, et al. **Diagnostic significance of urinary growth hormone measurements in children with growth failure : correlation between serum and urine growth hormone.** Pediatr. Res. 1991; 29:619-622.

8. EDGE JA, HOURD P, EDWARDS R, DUNGER DB. **Urinary growth hormone during puberty in normal and diabetic children.** Clin. Endocrinol. 1989; 30:413-420.

9. OKUNO A, YANO K, ITOH T, et al. **Urine growth hormone determinations compared with other methods in the assessment of growth hormone secretion.** Acta. Paed. Scand. 1987; 337(suppl):74-81.

10. SUKEGAWA I, HIZUKA N, TAKANO K, et al. **Measurement of nocturnal urinary growth hormone values.** Acta. Endocrinol. 1989; 121:290-296.

11. EVANS AJ, WOOD PJ. **Development of an assay for human growth hormone in urine using commercially available reagents.** Ann. Clin. Biochem. 1989; 26:353-357.

12. HOURD P, EDWARDS R. **Measurement of human growth hormone in urine : development and validation of a sensitive and specific assay.** J. Endocrinol. 1989; 121:167-175.

13. HASHIDA S, ISHIKAWA E, KATO T, et al. **Human growth hormone (hGH) in urine and its correlation to serum hGH examined by a highly sensitive sandwich enzyme immunoassay.** Clin. Chim. Acta. 1987; 162:229-235.

14. GIRARD J, FISHER-WASELS T. **Measurement of urinary growth hormone.** Horm. Res. 1990; 33(suppl4):12-18.

15. EVANS AJ,WILLIS DS, WOOD PJ. **The assay of urinary growth hormone in normal and acromegalic adults.** Clin. Endocrinol. 1991; 35:413-418.

16. WALKER JM, WILLIAMSON S, BETTS PR, EVANS AJ, WOOD PJ. **Urinary growth hormone excretion as a screening test for human growth deficiency.** Arch. Dis. Child. 1990; 65:89-92.

17. TOMITA H, OGAWA M, KOMIJO T, et al. **A highly sensitive sandwich enzyme immunoassay of urinary growth hormone in children with short stature, Turner's syndrome and simple obesity.** Acta. Endocrinol. 1989; 121:513-519.

18. HASHIDA S, ISHIKAWA E, NAKAGAWA K, et al. **Level of human growth hormone (hGH) in urine determined by a highly specific and sensitive sandwich enzyme immunoassay.** Anal. Leut. 1986; 19:625-638.

19. CROWNE EC, WALLACE WHB, SHALET SM, ADDISON GM, PRICE DA. **Relationship between urinary and serum growth hormone and pubertal status.** Arch. Dis. Child. 1991; 67:91-95.

20. PRICE DA, ADDISON GM, HERBERT ED. **Increase in urinary growth hormone excretion in puberty.** Arch. Dis. Child. 1990; 65:1203-1204.

21. HATTORI N, KATO Y, MURAKAMI Y, et al. **Urinary growth hormone levels measured by ultrasensitive enzyme immunoassay in patients with renal insufficiency.** J. Clin. Endocrinol. Metab. 1988; 66:727-732.

22. TASSONI P, CACCIARI E, CAU M, et al. **Variability of growth hormone response to pharmacological and sleep tests performed twice in short children.** J. Clin. Endocrinol. Metab. 1990; 71:230-234.

23. FORNITO MC, CALOGERO AE, MANGIOI A, et al. **Intra- and inter-individual variability in growth hormone responses to growth hormone releasing 164P hormone.** J. Neuroendocrinol. 1990; 2:87-90.

24. MAIN K, JARDEN M, LOTTE A, DINESEN B, HERTEL T, JUUL A, MIJLLER J, SKAKKEBAEK N. **The impact of gender and puberty on reference values for urinary growth hormone excretion : a study of 3 morning urine samples in 517 children and adults** J. Clin. Endocrinol. Metab.. 1994; 79:865-871.

XIX. RÉSUMÉ DU PROTOCOLE

	ACTIVITÉ TOTALE mL	NSB mL	CALIBRA- TEURS mL	ÉCHANTIL- LON(S) CONTRÔLES mL
Extraction				
Diluant des calibrateurs	-	10 mL	10 mL	-
Calibrateurs (1-5)	-	-	100 µL	-
Échantillons, Contrôles	-	-	-	10 mL
Tampon de dilution	-	10 mL	10 mL	10 mL
Billes	-	4 billes	4 billes	4 billes
Incubation	Une nuit à température ambiante en agitant à 300 tpm			
Séparation	-	aspiration		
Solution de lavage	-			

Séparation	-	6,0 mL aspiration		
Incubation NSB, Calibrateurs, Contrôles et échantillons extraits Traceur	- 0,5	2 billes 0,5	2 billes 0,5	2 billes 0,5
Incubation	18 - 24 heures à température ambiante			
Séparation	-	aspiration		
Solution de lavage	-	2,0 mL		
Séparation	-	aspiration		
Solution de lavage	-	2,0 mL		
Séparation	-	aspiration		
Comptage	Temps de comptage des tubes: 60 secondes			

Numéro de catalogue DIASource: KIP1131	Numéro de P.I: 1700440/fr	Numéro de révision: 101021/1
---	------------------------------	---------------------------------

Date de révision: 2010-10-21

	<u>Used symbols</u>
	Consult instructions for use
	Storage temperature
	Use by
LOT	Batch code
REF	Catalogue number
CONTROL	Control
I V D	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 125I	Tracer
Ab 125I	Tracer
Ag 125I CONC	Tracer concentrated
Ab 125I 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
U	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

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