



FSH-IRMA

KIP0841 - KIP0844

Read entire protocol before use.

FSH-IRMA

I. INTENDED USE

Immunoradiometric assay kit for the *in vitro* quantitative measurement of human Follicle Stimulating Hormone (FSH) in serum and plasma.

II. GENERAL INFORMATION

- A. Proprietary name :** DIAsource FSH-IRMA Kit
- B. Catalog number :** KIP0841: 96 tests
KIP0844: 4x96 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

The measurement of LH and FSH concentrations in serum is essential for investigating fertility and especially disorders of the hypothalamic/pituitary/gonadal axis.

Both LH and FSH are secreted by the basophil cells of the anterior pituitary as a result of gonadotropin releasing hormone (GnRH) secretion from hypothalamic cells.

In adults, LH and FSH hormones control gonadal functions; mainly gametogenesis and steroid secretion.

Circulating levels of FSH are controlled by a negative feedback effect on the hypothalamus by steroidal hormones and gonadal peptides.

IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

The DIASource FSH-IRMA is an immunoradiometric assay based on coated tubes separation. Mabs1, the capture antibodies, are attached to the lower and inner surface of the plastic tube. Calibrators or samples added to the tubes will at first show low affinity for Mabs1. Addition of Mab2, the signal antibody labelled with ^{125}I , will complete the system and trigger the immunological reaction. After washing, the remaining radioactivity bound to the tube reflects the antigen concentration. The use of several distinct Mabs avoids hyperspecificity.

V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	Quantity 96 tests	Quantity 4x96 tests	Colour Code	Reconstitution
 Tubes coated with anti FSH (monoclonal antibodies)	2 x 48	8 x 48	red	Ready for use
Ab ^{125}I Anti-FSH- ^{125}I (monoclonal antibodies) in borate- PO_4 buffer with bovine serum albumin, azide (<0.1%) and inert red dye	1 vial 5.5 ml 700 kBq	4 vials 5.5 ml 4x700 kBq	red	Ready for use
CAL 0 Zero Calibrator in bovine serum with thymol	1 vial lyophil.	2 vials lyophil.	yellow	Add 2 ml distilled water
CAL N Calibrators 1-6 in bovine serum with thymol (see exact values on vial labels)	6 vials lyophil.	12 vials lyophil.	yellow	Add 1 ml distilled water
WASH SOLN CONC Wash solution (TRIS-HCl)	1 vial 10 ml	4 vials 10 ml	brown	Dilute 70x with distilled water (use a magnetic stirrer).
CONTROL N Controls 1 and 2 in human serum with thymol	2 vials lyophil.	4 vials lyophil.	silver	Add 0.5 ml distilled water

Note: 1. Use the zero calibrator for sera dilutions.
2. 1 mIU of the calibrator is equivalent to 1 mIU of the 1^{st} IS 92/510.

VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

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

- Distilled water
- Pipettes for delivery of: 50 μl , 100 μl , 500 μl , 1 ml and 2 ml. (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
- Vortex mixer
- Magnetic stirrer
- Tube shaker
- 5 ml automatic syringe (Cornwall type) for washing
- Aspiration system (optional).
- Any gamma counter capable of measuring ^{125}I may be used (minimal yield 70%).

VII. REAGENT PREPARATION

- Calibrators** : Reconstitute the zero calibrator with 2 ml distilled water and the other calibrators with 1 ml distilled water..
- Controls** : Reconstitute the controls with 0.5 ml distilled water.
- 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.
- After reconstitution, calibrators and controls are stable for 3 days at 2-8°C. For longer storage periods, aliquots should be made and kept at -20°C for maximum 3 months. Avoid subsequent freeze-thaw cycles.
- Freshly prepared Working Wash solution should be used on the same day.
- After its first use, tracer is stable until expiry date, if kept in the original well-closed vial at 2 to 8°C.
- Alterations in physical appearance of kit reagents may indicate instability or deterioration.

IX. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- § Serum and plasma 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 subsequent freeze-thaw cycles.
- § Serum, heparinized or EDTA plasma provide similar results.

$$Y(\text{serum}) = 1.00x(\text{hep. plasma}) + 0.3 \quad r = 0.99 \quad n = 39$$

$$Y(\text{serum}) = 1.02x(\text{EDTA plasma}) + 0.3 \quad r = 0.99 \quad n = 39$$

X. PROCEDURE

- 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.

- Procedure**
- Label coated tubes in duplicate for each calibrator, control and sample. For determination of total counts, label 2 normal tubes.
 - Briefly vortex calibrators, samples and controls and dispense 100 μl of each into the respective tubes.
 - Dispense 50 μl of anti-FSH- ^{125}I tracer into each tube, including the uncoated tubes for total counts.
 - Shake the rack containing the tubes gently by hand to liberate any trapped air bubbles.
 - Incubate for 1 hour at room temperature on a tube shaker (700 rpm).
 - Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts). Be sure that the plastic tip of the aspirator reaches the bottom of the coated tube in order to remove all the liquid.
 - Wash the tubes with 2 ml Wash Solution (except total counts). Avoid foaming during the addition of the Working Wash Solution.
 - Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts).
 - Wash again the tubes with 2 ml Wash Solution (except total counts) and aspirate (or decant).
 - After the last washing, let the tubes standing upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
 - Count the tubes in a gamma counter for 60 seconds.

XI. CALCULATION OF RESULTS

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

XII. TYPICAL DATA

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

FSH-IRMA		cpm	B/T (%)
Total count		362200	100
Calibrator	0.0 mIU/ml	119	0.03
	0.7 mIU/ml	1265	0.35
	3.5 mIU/ml	2783	0.77
	10.4 mIU/ml	8400	2.32
	30.0 mIU/ml	28008	7.73
	100.0 mIU/ml	102364	28.26
152.0 mIU/ml		160536	44.32

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 0.1 mIU/ml.
- B. **Specificity**

Cross-reactive hormones were added to a low and to a high FSH value calibrator. The apparent FSH response was measured.

added Hormone	FSH CAL 1 mIU/ml	FSH CAL 5 mIU/ml
-	0.65	100
LH 300 mIU/ml	1.31	99.16
hCG 300000 mIU/ml	1.46	100.31
TSH 300 µIU/ml	0.98	98.31

C. Precision

INTRA ASSAY				INTER ASSAY			
Serum	N	<X> ± S.D. mIU/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± S.D. (mIU/ml)	CV (%)
A	10	4.0 ± 0.1	1.8	A	20	15.0 ± 3.0	4.4
B	10	9.0 ± 0.2	2.0	B	20	41.9 ± 1.0	2.4
C	10	50.7 ± 0.5	1.1				

D. Accuracy

RECOVERY TEST			
Sample	Added FSH (mIU/ml)	Recovered FSH (mIU/ml)	Recovery (%)
Serum	6.4	6.2	97
	25.1	23.6	94
	88.8	86.1	97
Heparin plasma	6.4	7	109
	25.1	25.1	100
	88.8	96	108
EDTA plasma	6.4	7.3	114
	25.1	23.6	94
	88.8	84.1	95

DILUTION TEST			
Sample	Dilution	Theoretical Concent. (mIU/ml)	Measured Concent. (mIU/ml)
Serum 1	1/1	-	8.6
	1/2	4.3	4.1
	1/4	2.2	2
	1/8	1.1	1.1
	1/16	0.5	0.5
Serum 2	1/1	-	59.6
	1/2	29.8	31.3
	1/4	14.9	16.5
	1/8	7.5	8.2
	1/16	3.7	4.0
	1/32	1.9	2.0
	1/64	0.9	1.0

Samples were diluted with zero calibrator.

- E. **Time Delay**

As shown hereafter, assay results remain accurate even when a sample is dispensed 45 minutes after the calibrator has been added to coated tubes.

TIME DELAY				
	0'	15'	30'	45'
Serum 1 (mIU/ml)	1.9	1.7	1.8	1.7
Serum 2 (mIU/ml)	4.2	4.3	4.2	4.2
Serum 3 (mIU/ml)	9.6	9.5	9.3	9.3
Serum 4 (mIU/ml)	52.0	52.0	52.0	53.0

- F. **Hook effect**

A sample spiked with FSH up to 1000 mIU/ml gives higher counts than the last calibrator point.

XIV. 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

XV. REFERENCE INTERVALS

The values provided below are given only for guidance; each laboratory should establish its own normal range of values.
The range is expressed as 2.5% to 97.5% percentiles.

Identification	Number of subjects	Mean (mIU/ml)	Range (mIU/ml)
Children (0 to 12 years)			
§ Boys	20	0.9	0.1 – 2.3
§ Girls	20	2.7	0.4 – 12.7
Pubers (12 to 18 years)	18	4.5	0.3 – 9.0
Adult males	69	4.2	1.3 – 8.1
Women			
§ Ovulatory cycles			
- Follicular phase (day –12 to -6)	34	6.1	1.8 – 9.4
- Ovulatory peak (day 0)	48	11.9	3.4 – 33.1
- Luteal phase (day +6 to +12)	63	4.3	1.2 – 13.4
§ Postmenopausal	53	64.7	27.7 – 93.3

XVI. PRECAUTIONS AND WARNINGS

Safety

For in vitro diagnostic use only.

This kit contains ^{125}I (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.

XVII. BIBLIOGRAPHY

- CLARKE J.J., CUMMINS J.T. (1987)
Pulsatility of reproductive hormones: physiological basis and clinical implications.
Baillière's Clin. Endocrinol. Metab., 1:1
- FILICORI M., SANTORO N., MERRIAN G.R., CROWLEY W.F. Jr., (1986)
Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 62:1136
- MAIS V., CETEL N.S., MUSE K.N., QUIGLEY M.E., REID R.L., YEN S.S.C. (1987)
Hormonal dynamics during luteal-follicular transition.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:1109
- SAWYER-STEFFAN J.E., LASLEY B.L., HOFF J.D., YEN S.S.C. (1982)
Comparison of in-vitro bioactivity and immunoreactivity of serum LH in normal cyclic and hypogonadal women treated with low doses of LH-RH.
J. Reprod. Fert., 65:45
- THOMAS C.M.G., SEGERS M.F.G. (1988)
Measurement of Serum hLH: hCG interference evaluated for two hLH-Specific IRMA kits.
Clin. Chem., 34:768

- LOUMAYE E., VANKRIEKEN L., DEPREESTER S., PSALTI I., de COOMAN S., THOMAS K. (1989)
Hormonal changes induced by short-term administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and their consequences for embryo development.
Fertil. and Steril., 51:105
- VERMES I., BONTE H.A., SLUIS VEER G., SCHOEMAKER J. (1991)
Interpretations of five monoclonal immunoassays of Lutropin and Follitropin: effects of normalization with WHO standard.
Clin. Chem., 37:415
- DEMOULIN A., DUBOIS M., GERDAY C., GILLAIN D., LAMBOTTE R., FRANCHIMONT P. (1991)
Variation of luteinizing hormone serum concentration after exogenous human chorionic gonadotropin administration during ovarian stimulation.
Fertil. and Steril., 55:796
- MASSA G., de ZECHER F., VANDERSCHUREN-LODEWYK K. (1992)
Serum levels of immunoreactive Inhibine, FSH and LH in human infants at Preterm and Term Birth.
Biol. of the Neonat., 61:150
- DE HERTOOGH R., VANKRIEKEN L., THOMAS K. de GASPARO M. (1992)
Circhoral fluctuations of serum total renin, inhibin and related hormones around the mid-cycle in normal human females.
Hum. Reprod., 7:337

XVIII. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	TOTAL COUNTS ml	CALIBRATORS ml	SAMPLE(S) CONTROLS ml
Calibrators (0-6) Samples, Controls Tracer	- 0.05	0.1 - 0.05	- 0.1 0.05
Incubation	1 hour at room temperature with shaking at 700 rpm		
Separation Washing solution Separation Washing solution Separation	- - - - -	aspirate (or decant) 2.0 aspirate (or decant) 2.0 aspirate (or decant)	
Counting	Count tubes for 60 seconds		

DIASource Catalogue Nr : KIP0841 – KIP0844	P.I. Number : 1700516/en	Date of issue : 090427/1
---	-----------------------------	-----------------------------

Revision date : 2009-04-27

Lire entièrement le protocole avant utilisation.

FSH-IRMA

I. BUT DU DOSAGE

Trousse de dosage radio-immunologique pour la mesure quantitative *in vitro* de l'Hormone Folliculo-Stimulante (FSH) dans le sérum et le plasma humain.

II. INFORMATIONS GENERALES

- A. **Nom du produit :** DIAsource FSH-IRMA kit
- B. **Numéro de catalogue :** KIP0841 : 96 Tests
KIP0844: 4x96 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

La mesure des concentrations en LH et en FSH dans le sérum est essentielle pour l'investigation de la fertilité et, en particulier, des dysfonctionnements de l'axe hypothalamique/hypophysaire/gonadique.

La LH ainsi que la FSH sont sécrétées par les cellules basophiles de l'hypophyse antérieure par suite de la sécrétion de la « gonadotrophine releasing hormone (GnRH) » par des cellules hypothalamiques.

Chez des adultes, les hormones LH et FSH contrôlent des fonctions gonadiques; surtout la gamétogénèse et la sécrétion des stéroïdes.

Les taux circulants de la FSH sont contrôlés par un effet de feed-back négatif sur l'hypothalamus par des hormones stéroïdes et des peptides gonadiques.

IV. PRINCIPES DU DOSAGE

La trousse DIASource FSH-IRMA est une trousse de dosage radio-immunologique basée sur la séparation en tube recouvert d'anticorps. Mabs1, les anticorps de capture, sont attachés sur la surface basse et interne du tube plastic. Les calibrateurs ou les échantillons ajoutés dans les tubes présenteront dans un premier temps une faible affinité pour Mabs1. L'addition de Mab2, l'anticorps signal marqué avec l'125I, complètera le système et déclenchera la réaction immunologique. Suite au lavage, la radioactivité restante liée au tube reflètera la concentration de l'antigène. L'utilisation de plusieurs Mabs différents évite l'hyperspécificité, commune aux IRMA deux-sites.

V. REACTIFS FOURNIS

Reactifs	96 tests Kit	4x96 tests Kit	Code Couleur	Reconstitution			
 Tubes recouverts avec l'anti FSH (anticorps monoclonal)	2 x 48	8 x 48	Rouge	Prêt à l'emploi			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRACEUR: anti – FSH marquée à l' ¹²⁵ Iodine (anticorps monoclonaux) dans un tampon borate-PO ₄ avec de l'albumine bovine, de l'azide de sodium (<0,1%) et un colorant rouge inactif	Ab	¹²⁵ I	1 flacon 5,5 ml 700 kBq	4 flacons 5,5 ml 4x700 kBq	Rouge	Prêt à l'emploi	
Ab	¹²⁵ I						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Calibrateur zéro dans du sérum bovin et du thymol	CAL	0	1 flacon lyophilisé	2 flacons lyophilisés	Jaune	Ajouter 2 ml d'eau distillée	
CAL	0						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibrateur N = 1 à 6 (cfr. Valeurs exactes sur chaque flacon) dans du sérum bovin et du thymol	CAL	N	6 flacons lyophilisés	12 flacons lyophilisés	Jaune	Ajouter 1 ml d'eau distillée	
CAL	N						
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Solution de Lavage (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 flacon 10 ml	4 flacons 10 ml	Brun	Diluer 70 x avec de l'eau distillée (utiliser un agitateur magnétique).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Contrôles - N = 1 ou 2 dans du sérum humain avec du thymol	CONTROL	N	2 flacons lyophilisés	4 flacons lyophilisés	Gris	Ajouter 0,5 ml d'eau distillée	
CONTROL	N						

Note:

- 1. Utiliser le calibrateur zéro pour la dilution des échantillons.
- 2. 1 mIU de la préparation du calibrateur est équivalent à 1 mIU de 1st IS 92/510.

VI. MATERIELS NON FOURNIS

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

- 1. Eau distillée
- 2. Pipettes pour distribuer: 50 µl, 100 µl, 500 µl, 1 ml et 2 ml (l'utilisation de pipettes précises et de pointes en plastique est recommandée)
- 3. Agitateur vortex
- 4. Agitateur magnétique
- 5. Agitateur de tubes
- 6. Seringue automatique de 5 ml (type Cornwall) pour les lavages
- 7. Système d'aspiration (optionnel)
- 8. Tout compteur gamma capable de mesurer l'125I peut être utilisé (rendement minimum 70%).

VII. PREPARATION DES REACTIFS

- A. **Calibrateurs** : Reconstituer le calibrateur zéro avec 2 ml d'eau distillée et les autres calibrateurs avec 1 ml d'eau distillée.
- B. **Contrôles** : Reconstituer les contrôles avec 0,5 ml d'eau distillée.
- C. **Solution de Lavage** : Préparer un volume adéquat de Solution de Lavage en ajoutant 69 volumes d'eau distillée à 1 volume de Solution de Lavage (70x). Utiliser un agitateur magnétique pour homogénéiser. Eliminer la Solution de Lavage non utilisée à la fin de la journée.

VIII. STOCKAGE ET DATE D'EXPIRATION DES REACTIFS

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

IX. PREPARATION ET STABILITE DE L'ECHANTILLON

- Les échantillons de sérum ou de plasma doivent être gardés entre 2 et 8°C.
- Si le test n'est pas réalisé dans les 24 heures, un stockage à -20°C est recommandé.
- Eviter des cycles de congélation et décongélation successifs.
- Le sérum ou le plasma donne des résultats similaires
 $Y(\text{sérum}) = 1,00x(\text{hep. plasma}) + 0,3$ $r = 0,99$ $n = 39$
 $Y(\text{sérum}) = 1,02x(\text{EDTA plasma}) + 0,3$ $r = 0,99$ $n = 39$

X. MODE OPERATOIRE

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

- B. **Mode opératoire**
 1. Identifier les tubes recouverts fournis dans la trousse, en double pour chaque calibrateur, échantillon, contrôle. Pour la détermination de l'activité totale, identifier 2 tubes non recouverts d'anticorps.
 2. Agiter au vortex brièvement les calibrateurs, les contrôles et les échantillons. Puis distribuer 100 µl de chacun d'eux dans leurs tubes respectifs.
 3. Distribuer 50 µl de traceur dans chaque tube.
 4. Agiter légèrement le portoir de tube manuellement pour libérer toute bulle d'air emprisonnée.
 5. Incuber pendant 1 heure à température ambiante sous agitation continue (700 rpm).
 6. Aspirer (ou décanter) le contenu de chaque tube (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale). Assurez-vous que la pointe utilisée pour aspirer le liquide des tubes atteint le fond de chacun d'eux pour éliminer toute trace de liquide.
 7. Laver les tubes avec 2 ml de Solution de Lavage (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale) et aspirer. Eviter la formation de mousse pendant l'addition de la Solution de Lavage.
 8. Aspirer (ou décanter) le contenu de chaque tube (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale).
 9. Laver les tubes à nouveau avec 2 ml de Solution de Lavage (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale) et aspirer (ou décanter).
 10. Après le dernier lavage, laisser les tubes droits pendant 2 minutes et aspirer (ou décanter) le reste de liquide.
 11. Placer les tubes dans un compteur gamma pendant 60 secondes pour quantifier la radioactivité.

XI. CALCUL DES RESULTATS

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

XII. DONNEES TYPES

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

FSH-IRMA		cpm	B/T (%)
Activité totale		362200	100
Calibrateur	0,0 mIU/ml	119	0,03
	0,7 mIU/ml	1265	0,35
	3,5 mIU/ml	2783	0,77
	10,4 mIU/ml	8400	2,32
	30,0 mIU/ml	28008	7,73
	100,0 mIU/ml	102364	28,26
	152,0 mIU/ml	160536	44,32

XIII. PERFORMANCE ET LIMITES

A. Sensibilité
Vingt calibrateurs zéro ont été testés en parallèle avec un assortiment d’autres calibrateurs. La limite de détection, définie comme la concentration apparente située 2 déviations standards au-dessus de la moyenne déterminée à la fixation zéro, était de 0,1 mIU/ml.

B. Spécificité
Des hormones cross-réactives ont été ajoutées à un calibrateur à valeur FSH basse et à un calibrateur à valeur FSH haute. La réponse FSH apparente a été mesurée.

Hormone ajoutée	FSH CAL 1 mIU/ml	FSH CAL 5 mIU/ml
-	0,65	100
LH 300 mIU/ml	1,31	99,16
hCG 300000 mIU/ml	1,46	100,31
TSH 300 µIU/ml	0,98	98,31

C. Précision

INTRA-ESSAI				INTER-ESSAI			
Sérum	N	<X> ± SD (mIU/ml)	CV (%)	Sérum	N	<X> ± SD (mIU/ml)	CV (%)
A	10	4,0 ± 0,1	1,8	A	20	15,0 ± 3,0	4,4
B	10	9,0 ± 0,2	2,0	B	20	41,9 ± 1,0	2,4
C	10	50,7 ± 0,5	1,1				

SD : Déviation Standard; CV: Coefficient de variation

D. Exactitude

TEST DE RECUPERATION			
Echantillon	FSH ajoutée (mIU/ml)	FSH récupérée (mIU/ml)	Récupération (%)
Sérum	6,4	6,2	97
	25,1	23,6	94
	88,8	86,1	97
Hep. plasma	6,4	7	109
	25,1	25,1	100
	88,8	96	108
EDTA plasma	6,4	7,3	114
	25,1	23,6	94
	88,8	84,1	95

TEST DE DILUTION

Echantillon	Dilution	Concent. théorique (mIU/ml)	Concent. Mesurée (mIU/ml)
Sérum 1	1/1	-	8,6
	1/2	4,3	4,1
	1/4	2,2	2
	1/8	1,1	1,1
	1/16	0,5	0,5
Sérum 2	1/1	-	59,6
	1/2	29,8	31,3
	1/4	14,9	16,5
	1/8	7,5	8,2
	1/16	3,7	4,0
	1/32	1,9	2,0
	1/64	0,9	1,0

Les échantillons ont été dilués avec le calibrateur zéro.

E. Délai entre la distribution du dernier calibrateur et celle de l’échantillon
Comme montré ci-dessous, les résultats d’un essai restent précis même quand un échantillon est distribué 45 minutes après que le calibrateur a été ajouté aux tubes avec l’anticorps.

DELAI

	0'	15'	30'	45'
Sérum 1 (mIU/ml)	1,9	1,7	1,8	1,7
Sérum 2 (mIU/ml)	4,2	4,3	4,2	4,2
Sérum 3 (mIU/ml)	9,6	9,5	9,3	9,3
Sérum 4 (mIU/ml)	52,0	52,0	52,0	53,0

F. Effet crochet
Un échantillon dopé avec du FSH jusqu’à 1000 mIU/ml donne des cpm supérieurs au dernier point de calibration.

XIV. CÔNTROLE DE QUALITE INTERNE

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

XV. VALEURS ATTENDUES

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

L’intervalle est basé sur les percentiles de 2,5% & 97,5%.

Identification	Nombre de sujets	Moyen (mIU/ml)	Intervalle (mIU/ml)
Enfants (0 à 12 ans)			
§ Garçons	20	0,9	0,1 – 2,3
§ Filles	20	2,7	0,4 – 12,7
Adolescents (12 à 18 ans)			
	18	4,5	0,3 – 9,0
Adultes masculins			
	69	4,2	1,3 – 8,1
Femmes			
· Cycles ovariens			
- Phase folliculaire (jour –12 à -6)	34	6,1	1,8 – 9,4
- Jour sommet (jour 0)	48	11,9	3,4 – 33,1
- Phase lutéale (jour +6 à +12)	63	4,3	1,2 – 13,4
· Postménopausique	53	64,7	27,7 – 93,3

XVI. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

Sécurité

Pour utilisation en diagnostic *in vitro* uniquement.
Cette trousse contient de l'125I (demi-vie: 60 jours), une matière radioactive émettant des rayonnements ionisants X (28 keV) et γ (35.5 keV).
Ce produit radioactif peut uniquement être reçu, acheté, possédé ou utilisé par des personnes autorisées; l'achat, le stockage, l'utilisation et l'échange de produits radioactifs sont soumis à la législation du pays de l'utilisateur final. Ce produit ne peut en aucun cas être administré à l'homme ou aux animaux. Toutes les manipulations radioactives doivent être exécutées dans un secteur désigné, éloigné de tout passage. Un journal de réception et de stockage des matières radioactives doit être tenu à jour dans le laboratoire. L'équipement de laboratoire et la verrerie, qui pourrait être contaminée avec des substances radioactives, doivent être isolés afin d'éviter la contamination croisée de plusieurs isotopes. Toute contamination ou perte de substance radioactive doit être réglée conformément aux procédures de radio sécurité. Les déchets radioactifs doivent être placés de manière à respecter les réglementations en vigueur. L'adhésion aux règles de base de sécurité concernant les radiations procure une protection adéquate.
Les composants de sang humain inclus dans ce kit ont été évalués par des méthodes approuvées par l'Europe et/ou la FDA et trouvés négatifs pour HBsAg, l'anti-HCV, l'anti-HIV-1 et 2. Aucune méthode connue ne peut offrir l'assurance complète que des dérivés de sang humain ne transmettront pas d'hépatite, le sida ou toute autre infection. Donc, le traitement des réactifs, du sérum ou des échantillons de plasma devront être conformes aux procédures locales de sécurité. Tous les produits animaux et leurs dérivés ont été collectés d'animaux sains. Les composants bovins proviennent de pays où l'ESB n'a pas été détectée. Néanmoins, les composants contenant des substances animales devront être traités comme potentiellement infectieux.
L'azide de sodium est nocif s'il est inhalé, avalé ou en contact avec la peau (l'azide de sodium est utilisé comme agent conservateur). L'azide dans cette trousse pouvant réagir avec le plomb et le cuivre dans les canalisations et donner des composés explosifs, il est nécessaire de nettoyer abondamment à l'eau le matériel utilisé.
Ne pas fumer, ni boire, ni manger ni appliquer de produits cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des vêtements protecteurs et des gants à usage unique.

XVII. BIBLIOGRAPHIE

1. CLARKE J.J., CUMMINS J.T. (1987)
Pulsatility of reproductive hormones: physiological basis and clinical implications.
Baillière's Clin. Endocrinol. Metab., 1:1

2. FILICORI M., SANTORO N., MERRIAN G.R., CROWLEY W.F. Jr., (1986)
Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 62:1136

3. MAIS V., CETEL N.S., MUSE K.N., QUIGLEY M.E., REID R.L., YEN S.S.C. (1987)
Hormonal dynamics during luteal-follicular transition.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:1109

4. SAWYER-STEFFAN J.E., LASLEY B.L., HOFF J.D., YEN S.S.C. (1982)
Comparison of in-vitro bioactivity and immunoreactivity of serum LH in normal cyclic and hypogonadal women treated with low doses of LH-RH.
J. Reprod. Fertil., 65:45

5. THOMAS C.M.G., SEGERS M.F.G. (1988)
Measurement of Serum hLH: hCG interference evaluated for two hLH-Specific IRMA kits.
Clin. Chem., 34:768

6. LOUMAYE E., VANKRIEKEN L., DEPREESTER S., PSALTI I., de COOMAN S., THOMAS K. (1989)
Hormonal changes induced by short-term administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and their consequences for embryo development.
Fertil. and Steril., 51:105

7. VERMES I., BONTE H.A., SLUIS VEER G., SCHOEMAKER J. (1991)
Interpretations of five monoclonal immunoassays of Lutropin and Follitropin: effects of normalization with WHO standard.
Clin. Chem., 37:415

8. DEMOULIN A., DUBOIS M., GERDAY C., GILLAIN D., LAMBOTTE R., FRANCHIMONT P. (1991)
Variation of luteinizing hormone serum concentration after exogenous human chorionic gonadotropin administration during ovarian stimulation.
Fertil. and Steril., 55:796

9. MASSA G., de ZECHER F., VANDERSCHUREN-LODEWYK K. (1992)
Serum levels of immunoreactive Inhibine, FSH and LH in human infants at Preterm and Term Birth.
Biol. of the Neonat., 61:150

10. DE HERTOOGH R., VANKRIEKEN L., THOMAS K. de GASPARO M. (1992)
Circhoral fluctuations of serum total renin, inhibin and related hormones around the mid-cycle in normal human females.
Hum. Reprod., 7:337

XVIII. RESUME DU PROTOCOLE

	ACTIVITE TOTALE (ml)	CALIBRA- TEURS (ml)	ECHANTIL- LON(S) CONTROLES (ml)
Calibrateurs (0-6) Echantillons, Contrôles Traceur	- - 0,05	0,1 - 0,05	- 0,1 0,05
Incubation	1 heure à T.A. sous agitation continue		
Séparation	-	Aspiration	
Solution de Lavage	-	2,0	
Séparation	-	aspiration	
Solution de Lavage	-	2,0	
Séparation	-	aspiration	
Comptage	Temps de comptage des tubes: 60 secondes		

DIAsource Catalogue Nr : KIP0841 – KIP0844	P.I. Number : 1700516/fr	Revision nr : 090427/1
---	-----------------------------	---------------------------



Vor Gebrauch des Kits lesen Sie bitte diese Packungsbeilage.

FSH-IRMA

I. VERWENDUNGSZWECK

Ein Radio-Immunoassay für die quantitative *in vitro* Bestimmung von humanem follikelstimulierendes Hormon (FSH) in Serum und Plasma.

II. ALLGEMEINE INFORMATION

- A. Handelsbezeichnung :** DIAsource FSH-IRMA Kit
- B. Katalognummer :** KIP0841 : 96 Tests
KIP0844: 4x96 Tests
- C. Hergestellt von:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgien.

Für technische Unterstützung oder Bestellungen wenden Sie sich bitte an:

Tel : +32 (0)67 88.99.99 Fax : +32 (0)67 88.99.96

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

E-mail Ordering : ordering@diasource.be

III. KLINISCHER HINTERGRUND

Die Messung der LH und FSH-Konzentrationen im Serum ist bei der Untersuchung der Fertilität und vor allem von Störungen der Hypothalamus/Hypophyse/Gonaden-Achse unerlässlich.

LH und FSH werden nach Ausschüttung von Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) durch den Hypothalamus in den basophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens gebildet.

Beim Erwachsenen steuern die Hormone LH und FSH die Gonadenfunktionen, vor allem die Gametogenese und die Steroidsekretion.

Zirkulierende FSH-Niveaus werden durch eine negative Rückkopplung mit dem Hypothalamus durch Steroidhormone und Gonadenpeptide gesteuert.

IV. GRUNDSÄTZLICHES ZUR DURCHFÜHRUNG

Der DIASource FSH-IRMA ist ein Radioimmuno-Assay in beschichteten Röhrchen. Mabs1, die Fänger-Antikörper, haften an der unteren inneren Oberfläche des Plastikröhrchens. In die Röhrchen zugegebene Kalibratoren oder Proben zeigen zuerst eine niedrige Affinität zu Mabs1. Zugabe von Mab2, des mit ¹²⁵I markierten Signalantikörpers, vervollständigt das System und triggert die immunologische Reaktion. Nach dem Waschen gibt die verbleibende, an den Röhrchen haftende Radioaktivität die Antigenkonzentration wieder. Die Verwendung einiger unterschiedlicher Mabs vermeidet die sonst bei zweiseitigem IRMA auftretende Hyperspezifität.

V. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenzien	96 Test Kit	4x96 Test Kit	Farb Code	Rekonstitution			
 Mit anti FSH-beschichtete Röhrchen (monoklonale Antikörper)	2 x 48	8 x 48	rot	gebrauchsfertig			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRACER: ¹²⁵ Iodmarkierter Anti-FSH (monoklonale Antikörper) in Borat-PO ₄ -puffer mit Rinderserumalbumin, Azid (<0,1%) und inertem roten Farbstoff	Ab	¹²⁵ I	1 Gefäß 5,5 ml 700 kBq	4 Gefäße 5,5 ml 4x700 kBq	rot	gebrauchsfertig	
Ab	¹²⁵ I						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Null Kalibrator in Rinderserum mit Thymol	CAL	0	1 Gefäß lyophil.	2 Gefäße lyophil.	gelb	2 ml dest. Wasser zugeben	
CAL	0						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibrator - N = 1 to 6 (genaue Werte auf Gefäß-Etiketten) in Rinderserum mit Thymol	CAL	N	6 Gefäße lyophil.	12 Gefäße lyophil.	gelb	1 ml dest. Wasser zugeben	
CAL	N						
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Waschlösung (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 Gefäß 10 ml	4 Gefäße 10 ml	braun	70 x mit dest. Wasser verdünnen (Magnetrührer benutzen).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Kontrollen - N = 1 or 2 Humanserum mitThymol	CONTROL	N	2 Gefäße lyophil.	4 Gefäße lyophil.	silber	0,5 ml dest. Wasser zugeben	
CONTROL	N						

Bemerkung:

- 1. Benutzen Sie Null Kalibrator zur Probenverdünnung.
- 2. 1 mIU der Standardzubereitung ist äquivalent zu 1 mIU 1st IS 92/510.

VI. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

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

- 1. Dest. Wasser
- 2. Pipetten: 50 µl, 100 µl, 500 µl, 1 ml und 2 ml (Verwendung von Präzisionspipetten mit Wegwerf-Plastikspitzen wird empfohlen)
- 3. 5 ml automatische Spritze (Cornwall Typ) zum Waschen
- 4. Absaugsystem (optional)
- 5. Vortex Mixer
- 6. Magnetrührer
- 7. Schüttler für Röhrchen
- 8. Jegl. Gamma-Counter, der ¹²⁵I messen kann, kann verwendet werden. (minimal Yield 70%)

VII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- A. **Kalibratoren** : Rekonstituieren Sie den Null Kalibrator mit 2 ml dest. Wasser, die anderen Kalibratoren mit 1 ml dest. Wasser.
- B. **Kontrollen** : Rekonstituieren Sie die Kontrollen mit 0,5 ml dest. Wasser.
- C. **Waschlösung**: Bereiten Sie ein angemessenes Volumen Waschlösung aus einem Anteil Waschlösung (70x) mit 69 Anteilen dest. Wasser zu. Verwenden Sie einen Magnetrührer zum gleichmäßigen Durchmischen. Verwerfen Sie die nicht benutzte Waschlösung am Ende des Tages.

VIII. AUFBEWAHRUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

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

IX. PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG

- Serum- oder Plasmaproben müssen bei 2 – 8°C aufbewahrt werden.
- Falls der Test nicht innerhalb von 24 Std. durchgeführt wird, ist die Aufbewahrung bei –20°C erforderlich.
- Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
- Serum- oder Plasmaproben liefern ähnliche Ergebnisse
Y (Serum) = 1,00x (hep. Plasma) + 0,3 r = 0,99 n = 39
Y (Serum) = 1,02x (EDTA Plasma) + 0,3 r = 0,99 n = 39

X. DURCHFÜHRUNG

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

- B. **Durchführung**
 1. Beschriften Sie je 2 beschichtete Röhrchen für jeden Kalibrator, jede Probe und Kontrolle. Zur Bestimmung der Gesamtaktivität, beschriften Sie 2 normale Röhrchen.
 2. Vortexen Sie Kalibratoren , Kontrollen und Proben kurz und geben Sie jeweils 100 µl in ihre Röhrchen.
 3. Geben Sie 50 µl des Tracers in jedes Röhrchen.
 4. Schütteln Sie vorsichtig die Halterung mit den Röhrchen um Blasen zu entfernen.
 5. Inkubieren Sie 1 Stunde bei Raumtemperatur unter ständigem Schütteln (700 rpm)
 6. Saugen Sie den Inhalt jedes Röhrchens ab (oder dekantieren Sie) (außer Gesamtaktivität). Vergewissern Sie sich, dass die Plastikspitze des Absaugers den Boden des beschichteten Röhrchens erreicht, um die gesamte Flüssigkeit zu entfernen.
 7. Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie). Vermeiden Sie Schaumbildung bei Zugabe der Waschlösung.
 8. Saugen Sie den Inhalt jeden Röhrchens (außer Gesamtaktivität) ab.
 9. Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie).
 10. Lassen Sie nach dem letzten Waschen die Röhrchen 2 Minuten aufrecht stehen und saugen Sie den verbleibenden Flüssigkeitstropfen ab.
 11. Werten Sie die Röhrchen in einem Gamma-Counter 60 Sekunden aus.

XI. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

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

XII. TYPISCHE WERTE

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

FSH-IRMA		cpm	B/T (%)
Gesamtaktivität		362200	100
Kalibrator	0,0 mIU/ml	119	0,03
	0,7 mIU/ml	1265	0,35
	3,5 mIU/ml	2783	0,77
	10,4 mIU/ml	8400	2,32
	30,0 mIU/ml	28008	7,73
	100,0 mIU/ml	102364	28,26
	152,0 mIU/ml	160536	44,32

XIII. LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN DER METHODIK

A. Nachweisgrenze
Zwanzig Null-Kalibratoren wurden zusammen mit einem Satz anderer Kalibratoren gemessen.
Die Nachweisgrenze, definiert als die scheinbare Konzentration bei zwei Standardabweichungen über dem gemessenen Durchschnittswert bei Nullbindung, entsprach 0,1 mIU/ml.

B. Spezifität
Kreuzreaktive Hormone wurden zu einem minderwertigen und zu einem hochwertigen Kalibrator zugegeben. Das Scheinbare FSH Ergebnis wurde gemessen.

zugegeben Hormone	FSH CAL 1 mIU/ml	FSH CAL 5 mIU/ml
-	0,65	100
LH 300 mIU/ml	1,31	99,16
hCG 300000 mIU/ml	1,46	100,31
TSH 300 µIU/ml	0,98	98,31

C. Präzision

INTRA ASSAY				INTER ASSAY			
Serum	N	<X> ± SD (mIU/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (mIU/ml)	CV (%)
A	10	4,0 ± 0,1	1,8	A	20	15,0 ± 3,0	4,4
B	10	9,0 ± 0,2	2,0	B	20	41,9 ± 1,0	2,4
C	10	50,7 ± 0,5	1,1				

SD : Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

D. Genauigkeit

WIEDERFINDUNGSTEST			
Probe	Zugeg. FSH (mIU/ml)	Wiedergef. FSH (mIU/ml)	Wiedergefunden (%)
Serum	6,4	6,2	97
	25,1	23,6	94
	88,8	86,1	97
Hep. plasma	6,4	7	109
	25,1	25,1	100
	88,8	96	108
EDTA plasma	6,4	7,3	114
	25,1	23,6	94
	88,8	84,1	95

VERDÜNNUNGSTEST

Probe	Verdünn.	Theoret. Konz. (mIU/ml)	Gemess. Konz. (mIU/ml)
Serum 1	1/1	-	8,6
	1/2	4,3	4,1
	1/4	2,2	2
	1/8	1,1	1,1
	1/16	0,5	0,5
Serum 2	1/1	-	59,6
	1/2	29,8	31,3
	1/4	14,9	16,5
	1/8	7,5	8,2
	1/16	3,7	4,0
	1/32	1,9	2,0
	1/64	0,9	1,0

Die Proben wurden mit Null Kalibrator verdünnt.

E. Zeitverzögerung zwischen letzter Kalibrator- und Probenzugabe
Es wird im folgenden gezeigt, dass die Genauigkeit der Tests selbst dann erhalten bleibt, wenn die Probe 45 Minuten nach Zugabe des Kalibrators in die beschichteten Röhrchen zugefügt wird.

ZEITABSTAND				
	0'	15'	30'	45'
Serum 1 (mIU/ml)	1,9	1,7	1,8	1,7
Serum 2 (mIU/ml)	4,2	4,3	4,2	4,2
Serum 3 (mIU/ml)	9,6	9,5	9,3	9,3
Serum 4 (mIU/ml)	52,0	52,0	52,0	53,0

F. Hookeffekt
Eine Probe mit FSH bis zu 1000 mIU/ml liefert höhere Messwerte als der letzte Kalibratormesswert.

XIV. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

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

XV. REFERENZ INTERVALLE

Diese Werte sind nur Richtwerte; jedes Labor muss seinen eigenen Normalwertbereich ermitteln.
Bereich auf basis der 2,5% und 97,5% Perzentile

Identifikation	Anzahl von Personen	Mittelwert (mIU/ml)	Bereich (mIU/ml)
Kinder (0 bis 12 Jahre)			
§ Jungen	20	0,9	0,1 – 2,3
§ Mädchen	20	2,7	0,4 – 12,7
Jugendliche (12 bis 18 Jahre)	18	4,5	0,3 – 9,0
Erwachsene Männer	69	4,2	1,3 – 8,1
Frauen			
· Ovulationszyklen			
- Follikelsphase (Tag –12 bis –6)	34	6,1	1,8 – 9,4
- Ovulationsgipfel (Tag 0)	48	11,9	3,4 – 33,1
- Lutealphase (Tag +6 bis +12)	63	4,3	1,2 – 13,4
· Postmenopausal	53	64,7	27,7 – 93,3

XV. VORSICHTMASSNAHMEN UND WARNUNGEN

Sicherheit

Nur für diagnostische Zwecke.
Dieser Kit enthält ¹²⁵I (Halbwertszeit: 60 Tagen) , das ionisierende X (28 keV) und γ (35.5 keV) Strahlungen emittiert.
Dieses radioaktive Produkt kann nur an autorisierte Personen abgegeben und darf nur von diesen angewendet werden; Erwerb, Lagerung, Verwendung und Austausch radioaktiver Produkte sind Gegenstand der Gesetzgebung des Landes des jeweiligen Endverbrauchers. In keinem Fall darf das Produkt an Menschen oder Tieren angewendet werden.
Der Umgang mit radioaktiven Substanzen sollte fern von Durchgangsverkehr in einem speziell ausgewiesenen Bereich stattfinden. Ein Logbuch für Protokolle und Aufbewahrung muss im Labor sein. Die Laborausrüstung 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 potenziell infektiös betrachtet werden.
Vermeiden Sie Hautkontakt mit den Reagenzien (Natriumazid als Konservierungsmittel). Das Azid in diesem Kit kann mit Blei oder Kupfer in den Abflussrohren reagieren und so hochexplosive Metallazide bilden. Spülen Sie während der Waschschrte den Abfluss gründlich mit viel Wasser, um die Metallazidbildung zu verhindern.
Bitte rauchen, trinken, essen oder wenden Sie Kosmetika nicht in Ihrem Arbeitsbereich an. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Verwenden Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

XVII. LITERATUR

1. CLARKE J.J., CUMMINS J.T. (1987)
Pulsatility of reproductive hormones: physiological basis and clinical implications.
Baillière's Clin. Endocrinol. Metab., 1:1

2. FILICORI M., SANTORO N., MERRIAN G.R., CROWLEY W.F. Jr., (1986)
Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 62:1136

3. MAIS V., CETEL N.S., MUSE K.N., QUIGLEY M.E., REID R.L., YEN S.S.C. (1987)
Hormonal dynamics during luteal-follicular transition.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:1109

4. SAWYER-STEFFAN J.E., LASLEY B.L., HOFF J.D., YEN S.S.C. (1982)
Comparison of in-vitro bioactivity and immunoreactivity of serum LH in normal cyclic and hypogonadal women treated with low doses of LH-RH.
J. Reprod. Fertil., 65:45

5. THOMAS C.M.G., SEGERS M.F.G. (1988)
Measurement of Serum hLH: hCG interference evaluated for two hLH-Specific IRMA kits.
Clin. Chem., 34:768

6. LOUMAYE E., VANKRIEKEN L., DEPREESTER S., PSALTI I., de COOMAN S., THOMAS K. (1989)
Hormonal changes induced by short-term administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and their consequences for embryo development.
Fertil. and Steril., 51:105

7. VERMES I., BONTE H.A., SLUIS VEER G., SCHOEMAKER J. (1991)
Interpretations of five monoclonal immunoassays of Lutropin and Follitropin: effects of normalization with WHO standard.
Clin. Chem., 37:415

8. DEMOULIN A., DUBOIS M., GERDAY C., GILLAIN D., LAMBOTTE R., FRANCHIMONT P. (1991)
Variation of luteinizing hormone serum concentration after exogenous human chorionic gonadotropin administration during ovarian stimulation.
Fertil. and Steril., 55:796

9. MASSA G., de ZECHER F., VANDERSCHUREN-LODEWYK K. (1992)
Serum levels of immunoreactive Inhibin, FSH and LH in human infants at Preterm and Term Birth.
Biol. of the Neonat., 61:150

10. DE HERTOGH R., VANKRIEKEN L., THOMAS K. de GASPARO M. (1992)
Circhoral fluctuations of serum total renin, inhibin and related hormones around the mid-cycle in normal human females.
Hum. Reprod., 7:337

XVIII.ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

	GESAMT- AKTIVITÄT (ml)	KALIBRA- TOREN (ml)	PROBE(N) KONTROLLEN (ml)
Kalibratoren (0-6) Proben, Kontrollen Tracer	- - 0,05	0,1 - 0,05	- 0,1 0,05
Inkubation	1 Std. bei RT unter ständigem Schütteln		
Trennung Waschlösung Trennung Waschlösung Trennung	- - - - -	absaugen (oder dekant.) 2,0 absaugen (oder dekant.) 2,0 absaugen (oder dekant.)	
Gamma Counter	60 Sekunden messen		

DIAsource Katalognummer : KIP0841 – KIP0844	Beipackzettelnnummer: 1700516/de	Nummer der Originalausgabe: 090427/1
--	-------------------------------------	--



Lees het hele protocol vóór gebruik.

FSH-IRMA

I. BEOOGD GEBRUIK

Immunoradiometrische testkit voor de *in vitro* kwantitatieve bepaling van humaan Follikelstimulerend Hormoon (FSH) in serum en plasma.

II. ALGEMENE INFORMATIE

A. Gedeponoord handelsmerk: DIAsource FSH-IRMA kit

B. Catalogusnummer: KIP0841 : 96 testen
KIP0844: 4x96 testen

C. Geproduceerd door: DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8 B-1400 Nivelles, België.

Voor technische assistentie of voor bestelinformatie kunt u contact opnemen met:

Tel.: +32 (0)67 88 99 99 - Fax: +32 (0)67 88 99 96

III. KLINISCHE ACHTERGROND

De meting van de concentraties van LH en FSH in serum is essentieel om de vruchtbaarheid te onderzoeken en in het bijzonder stoornissen van de hypothalamische/hypofysaire/gonadale as.

Zowel LH als FSH worden afgescheiden door de basofiele cellen van de hypofyse voorkwab ten gevolge de secretie van gonadotropine releasing hormone (GnRH) van hypothalamische cellen.

Bij volwassenen controleren de LH en FSH hormonen geslachtsfuncties; vooral gametogenese en secretie van steroïden.

De circulerende FSH-gehalten worden gecontroleerd door een negatief feedback-effect op de hypothalamus door steroïdale hormonen en gonadale peptiden.

IV. BESCHRIJVING VAN DE METHODE

FSH-IRMA van DIAsource is een immunoradiometrische bepaling die gebaseerd is op een scheiding aan de hand van een gecoat buis. Mabs1, de invangantilichamen, zijn onderaan aan het binnenoppervlak van de plastic buis gehecht. Kalibrators of monsters die toegevoegd worden aan de buizen zullen aanvankelijk een lage affiniteit vertonen voor Mabs1. Toevoeging van Mab2, het signaalgenererend antilichaam dat gelabeld werd met ¹²⁵I, zal het systeem vervolledigen en de immunologische reactie teweegbrengen. Na de wasfase geeft de overblijvende radioactiviteit, gebonden aan de buis, de antigeenconcentratie weer. Door het gebruik van meerdere verschillende Mabs wordt hyperspecificiteit vermeden, die gebruikelijk is voor IRMA met 2 Mabs.

V. GELEVERDE REAGENTIA

Reagentia	Kit met 96 testen	Kit met 4x96 testen	Kleur-code	Reconstitutie			
 buizen gecoat met anti-FSH (monoklonale antilichamen)	2 x 48	8 x 48	rood	Klaar voor gebruik			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRACER: Anti-FSH (monoklonale antilichamen) gelabeld met ¹²⁵ jood in boorzuur-PO ₄ buffer met bovien serumalbumine, azide (< 0,1%) een inerte rode kleurstof	Ab	¹²⁵ I	1 flacon 5,5 ml 700 kBq	4 flacon 5,5 ml 4x700 kBq	rood	Klaar voor gebruik	
Ab	¹²⁵ I						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Nulkalibrator in bovien serum met thymol	CAL	0	1 flacon gevries- droogd	2 flacons gevries- droogd	geel	2 ml gedestilleerd water toevoegen	
CAL	0						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibrator - N = 1 tot 6 (raadpleeg de flaconetiketten voor de exacte waarden) in bovien serum met thymol	CAL	N	6 flacons, gevries- droogd	12 flacons, gevries- droogd	geel	1 ml gedestilleerd water toevoegen	
CAL	N						
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Wasoplossing (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 flacon 10 ml	4 flacons 10 ml	bruin	70 x met gedestilleerd water verdunnen (gebruik een magnetische roerder).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controles - N = 1 of 2 in humaan serum met thymol.	CONTROL	N	2 flacons, gevries- droogd	4 flacons, gevries- droogd	zilver	0,5 ml gedestilleerd water toevoegen	
CONTROL	N						

Opmerking : 1. Gebruik Nulkalibrator voor monsterverdunningen
2. 1 mIE van de kalibratorbereiding is gelijk aan 1 mIE van 1st IS 92/510.

VI. NIET MEEGELEVERDE MATERIALEN

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

1. Gedestilleerd water.
2. Pipetten voor een volume van 50 µl, 100 µl, 500 µl, 1 ml en 2 ml (het gebruik van nauwkeurige pipetten met plastic wegwerptips wordt aanbevolen).
3. Automatische spuit van 5 ml (type Cornwall) voor de wasfase.
4. Afzuigstelsysteem (facultatief).
5. Vortexmenger.
6. Magnetische roerder.
7. Schudder voor de buisjes.
8. Een gammateller die geschikt is voor de bepaling van ¹²⁵I (rendement van ten minste 70%).

VII. BEREIDING VAN HET REAGENS

- A. Kalibrators:** Reconstitueer de nulkalibrator met 2 ml gedestilleerd water en de andere kalibrators met 1 ml gedestilleerd water.
- B. Controles:** Reconstitueer de controles met 0,5 ml gedestilleerd water.
- C. Werk-wasoplossing:** Bereid een voldoende hoeveelheid werk-wasoplossing door 69 eenheden gedestilleerd water toe te voegen aan 1 eenheid wasoplossing (70 x). Gebruik een magnetische roerder voor de homogenisering. Op het eind van de dag moet de ongebruikte werk-wasoplossing afgevoerd worden.

VIII. OPSLAG EN VERVALDATUM VAN REAGENTIA

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

IX. MONSTERAFNAME EN MONSTERBEREIDING

- Serum en plasma moet bij 2 tot 8°C bewaard worden.
- Indien de bepaling moet binnen 24 uur uitgevoerd wordt, dan wordt aanbevolen om ze bij -20°C te bewaren.
- Vermijd opeenvolgende cycli van bevriezen en ontdooien.
- Serum en plasma leveren vergelijkbare resultaten op
Y (serum) = 1,00x (hep. plasma) + 0,3 r = 0,99 n = 39
Y (serum) = 1,02x (EDTA plasma) + 0,3 r = 0,99 n = 39

X. PROCEDURE

- A. Opmerkingen bij de procedure**
Gebruik de kit of de componenten niet langer dan de aangegeven vervaldatum. Materialen van kits van verschillende loten mogen niet gemengd worden. Laat alle reagentia op kamertemperatuur komen vóór gebruik. Meng alle reagentia en monsters goed door ze voorzichtig te bewegen of door er voorzichtig mee te draaien. Om kruisbesmetting te vermijden, moet een propere wegwerpbare pipettip gebruikt worden voor toevoeging van elk reagens en monster. Pipetten met een grote precisie of geautomatiseerde pipetteerapparatuur zullen de precisie verhogen. Respecteer de incubatietijden. Bereid een kalibratiecurve voor elke run; men mag geen gegevens gebruiken van voorafgaande runs.

- B. Procedure**
1. Etiketteer de gecoat buisjes in duplo voor elke kalibrator, voor elk monster, voor elke controle. Etiketteer 2 normale buizen voor de bepaling van de totaal tellingen.
 2. Vortex de kalibrators, controles en monsters gedurende korte tijd en pipetteer 100 µl van elk in de desbetreffende buis.
 3. Pipetteer 50 µl van de tracer in elke buis.
 4. Schud het rek met de buizen voorzichtig met de hand zodat eventueel ingesloten luchtballen vrijkomen.
 5. Incubeer gedurende 1 uur bij kamertemperatuur terwijl er voortdurend mee geschud wordt (700 rpm).
 6. Zuig de inhoud van elke buis (met uitzondering van de totaal tellingen) op (of decanteer). Zorg ervoor dat de plastic tip van de aspirator tot aan de bodem van de gecoat buis komt zodat alle vloeistof verwijderd wordt.
 7. Was de buizen met 2 ml werk-wasoplossing (met uitzondering van de totaal tellingen). Vermijd schuimvorming tijdens toevoeging van de werk-wasoplossing.
 8. Zuig de inhoud van elke buis (met uitzondering van de totaal tellingen) op (of decanteer).
 9. Was de buisjes nogmaals met 2 ml werk-wasoplossing (met uitzondering van de totaal tellingen) en zuig op (of decanteer).
 10. Na de laatste wasfase moeten de buisjes gedurende twee minuten rechtop blijven staan en zuig daarna de overblijvende vloeistof op.
 11. Tel de buizen in een gammateller gedurende 60 seconden.

XI. BEREKENING VAN DE RESULTATEN

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

XII. KENMERKENDE GEGEVENS

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

FSH-IRMA		cpm	B/T (%)
Totaaltelling		362200	100
Kalibrator	0,0 mIE/ml	119	0,03
	0,7 mIE/ml	1265	0,35
	3,5 mIE/ml	2783	0,77
	10,4 mIE/ml	8400	2,32
	30,0 mIE/ml	28008	7,73
	100,0 mIE/ml	102364	28,26
	152,0 mIE/ml	160536	44,32

XIII. EIGENSCHAPPEN EN GRENZEN

- A. **Detectielimiet**
Twintig nulkalibrators werden bepaald, samen met een reeks andere kalibrators. De detectielimiet, omschreven als de schijnbare concentratie van twee standaarddeviaties boven de gemiddelde tellingen bij nulbinding, bedroeg 0,1 mIE/ml.
- B. **Specificiteit**
Kruisreagerende hormones werden toegevoegd aan kalibrators met lage en hoge waarden. De schijnbare respons van FSH werd gemeten.

Toegevoegd hormoon	FSH CAL 1 mIE/ml	FSH CAL 5 mIE/ml
-	0,65	100
LH 300 mIE/ml	1,31	99,16
hCG 300000 mIE/ml	1,46	100,31
TSH 300 µIE/ml	0,98	98,31

C. Precisie

BINNEN EEN TEST				TUSSEN TESTEN			
Serum	N	<X> ± SD (mIE/ml)	VC (%)	Serum	N	<X> ± SD (mIE/ml)	VC (%)
A	10	4,0 ± 0,1	1,8	A	20	15,0 ± 3,0	4,4
B	10	9,0 ± 0,2	2,0	B	20	41,9 ± 1,0	2,4
C	10	50,7 ± 0,5	1,1				

SD: standaarddeviatie; VC: variatiecoëfficiënt

D. Nauwkeurigheid

RECOVERY –TEST			
Monster	Toegevoegd FSH (mIE/ml)	Recovery van FSH (mIE/ml)	Recovery (%)
Serum	6,4	6,2	97
	25,1	23,6	94
	88,8	86,1	97
Heparine plasma	6,4	7	109
	25,1	25,1	100
	88,8	96	108
EDTA plasma	6,4	7,3	114
	25,1	23,6	94
	88,8	84,1	95

VERDUNNINGSTEST			
Monster	Verdunning	Theoretische concentratie (mIE/ml)	Concentratie die bepaald werd (mIE/ml)
Serum 1	1/1	-	8,6
	1/2	4,3	4,1
	1/4	2,2	2
	1/8	1,1	1,1
	1/16	0,5	0,5
Serum 2	1/1	-	59,6
	1/2	29,8	31,3
	1/4	14,9	16,5
	1/8	7,5	8,2
	1/16	3,7	4,0
	1/32	1,9	2,0
	1/64	0,9	1,0

De monsters zijn verdund met Nulkalibrator.

- F. **Tijdspanne tussen de laatste kalibrator en distributie van het monster**
Zoals hieronder weergegeven wordt, blijven de resultaten van de bepaling nauwkeurig, zelfs wanneer een monster 45 minuten na toevoeging van de kalibrator in de gecoate tubes gepipetteerd wordt.

TIJDSPANNE				
	0'	15'	30'	45'
Serum 1 (mIE/ml)	1,9	1,7	1,8	1,7
Serum 2 (mIE/ml)	4,2	4,3	4,2	4,2
Serum 3 (mIE/ml)	9,6	9,5	9,3	9,3
Serum 4 (mIE/ml)	52,0	52,0	52,0	53,0

- G. **"Hook"-effect**
Een monster, dat met FSH gespiket werd tot 1000 mIE/ml, levert hogere tellingen op dan het laatste kalibratiepunt.

XIV. INTERNE KWALITEITSCONTROLE

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

XV. REFERENTIE-INTERVALS

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

Bereik gebaseerd op 2.5% & 97.5% percentielen.

Identificatie	Aantal subjecten	Gemiddelde (mIE/ml)	Bereik (mIE/ml)
Kinderen (0 tot 12 jaar)			
§ jongens	20	0,9	0,1 – 2,3
§ meisjes	20	2,7	0,4 – 12,7
Pubers (12 to 18 jaar)	18	4,5	0,3 – 9,0
Mannelijke volwassenen	69	4,2	1,3 – 8,1
Vrouwen			
· Ovulatiecycli			
- Folliculaire fase (dag –12 tot -6)	34	6,1	1,8 – 9,4
- Ovulatiepiek (dag 0)	48	11,9	3,4 – 33,1
- Luteale fase (dag +6 tot +12)	63	4,3	1,2 – 13,4
· Postmenopauzaal	53	64,7	27,7 – 93,3

XVI. VOORZORGSMAATREGELEN EN WAARSCHUWINGEN

Veiligheid

Uitsluitend voor in vitro diagnostisch gebruik.
Deze kit bevat ¹²⁵I (halfwaardetijd: 60 dagen) , dat ioniserende X- (28 keV) en γ-stralen (35.5 keV) uitzendt.

Dit radioactieve product mag enkel overhandigd worden aan en gebruikt worden door bevoegd personeel; ontvangst, opslag, gebruik en overdracht van radioactieve producten zijn onderworpen aan de wetgeving van het land van de eindgebruiker. In geen geval mag het product toegediend worden aan mensen of dieren.

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

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

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

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

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

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

1.

CLARKE J.J., CUMMINS J.T. (1987)
Pulsatility of reproductive hormones: physiological basis and clinical implications.
Baillière's Clin. Endocrinol. Metab., 1:1

2.

FILICORI M., SANTORO N., MERRIAN G.R., CROWLEY W.F. Jr., (1986)
Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 62:1136

3.

MAIS V., CETEL N.S., MUSE K.N., QUIGLEY M.E., REID R.L., YEN S.S.C. (1987)
Hormonal dynamics during luteal-follicular transition.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:1109

4.

SAWYER-STEFFAN J.E., LASLEY B.L., HOFF J.D., YEN S.S.C. (1982)
Comparison of in-vitro bioactivity and immunoreactivity of serum LH in normal cyclic and hypogonadal women treated with low doses of LH-RH.
J. Reprod. Fertil., 65:45

5.

THOMAS C.M.G., SEGERS M.F.G. (1988)
Measurement of Serum hLH: hCG interference evaluated for two hLH-Specific IRMA kits.
Clin. Chem., 34:768

6.

LOUMAYE E., VANKRIEKEN L., DEPREESTER S., PSALTI I., de COOMAN S., THOMAS K. (1989)
Hormonal changes induced by short-term administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and their consequences for embryo development.
Fertil. and Steril., 51:105

7.

VERMES I., BONTE H.A., SLUIS VEER G., SCHOEMAKER J. (1991)
Interpretations of five monoclonal immunoassays of Lutropin and Follitropin: effects of normalization with WHO standard.
Clin. Chem., 37:415

8.

DEMOULIN A., DUBOIS M., GERDAY C., GILLAIN D., LAMBOTTE R., FRANCHIMONT P. (1991)
Variation of luteinizing hormone serum concentration after exogenous human chorionic gonadotropin administration during ovarian stimulation.
Fertil. and Steril., 55:796

9.

MASSA G., de ZECHER F., VANDERSCHUREN-LODEWYK K. (1992)
Serum levels of immunoreactive Inhibin, FSH and LH in human infants at Preterm and Term Birth.
Biol. of the Neonat., 61:150

10.

DE HERTOOGH R., VANKRIEKEN L., THOMAS K. de GASPARO M. (1992)
Circhoral fluctuations of serum total renin, inhibin and related hormones around the mid-cycle in normal human females.
Hum. Reprod., 7:337

XVIII. SAMENVATTING VAN HET PROTOCOL

	TOTAAL- TELLINGEN (ml)	KALIBRA- TORS (ml)	MONSTER(S) CONTROLES (ml)
Kalibrators (0 -6) Monsters, Controles Tracer	- - 0,05	0,1 - 0,05	- 0,1 0,05
Incubatie	1 uur bij kamertemperatuur terwijl er voortdurend mee geschud wordt.		
Scheiding Werk-wasoplossing Scheiding Werk-wasoplossing Scheiding	- - - - -	opzuigen (of decanteer) 2,0 opzuigen (of decanteer) 2,0 opzuigen (of decanteer)	
Telling	Tel de buisjes gedurende 60 seconden		

DIAsource catalogusnummer: KIP0841 – KIP0844	Nummer van de bijsluiters: 1700516/nl	Revisienummer: 090427/1
---	--	----------------------------

Leer el protocolo completo antes de usar.

FSH-IRMA

I. INSTRUCCIONES DE USO

Radioinmunoensayo para la determinación cuantitativa *in vitro* de la Hormona Foliculo Estimulante (FSH) humana en suero y plasma.

II. INFORMACIÓN GENERAL

- A. Nombre:** DIAsource FSH-IRMA Kit
- B. Número de Catálogo:** KIP0841 : 96 Tests
KIP0844: 4x96 Tests
- C. Fabricado por:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

Para cuestiones técnicas y información sobre pedidos contactar :

Tel : +32 (0)67 88.99.99

Fax : +32 (0)67 88.99.96

III. INFORMACIÓN CLÍNICA

La medición de las concentraciones de la LH y de la FSH en suero es esencial para la investigación de la fertilidad y particularmente de disfunciones del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal.

La LH y la FSH son segregadas por las células basófilas de la glándula pituitaria anterior a causa de la secreción de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) por células hipotalámicas.

En adultos, las hormonas LH y FSH controlan funciones gonadales; especialmente la gametogénesis y la secreción de esteroides.

Los niveles circulantes de FSH son controlados por un efecto de feed-back negativo sobre el hipotálamo por hormonas esteroides y péptidos gonadales.

IV. PRINCIPIOS DEL MÉTODO

FSH-IRMA de DIASource es un radioinmunoensayo basado en la separación en tubo recubierto de anticuerpos. Mabs1, los anticuerpos de captura, se adhieren en la parte interior inferior de las paredes del tubo de poliestireno. Al principio calibradores o muestras añadidos en los tubos presentarán poca afinidad con Mabs1. La adición de Mab2, el anticuerpo señal marcado con ¹²⁵I, completará el sistema y activará la reacción inmunológica. Después del lavado, la radiactividad restante adherida al tubo, refleja la concentración del antígeno. El uso de varios Mabs distintos evita hiperespecificidad, propio de IRMA dos-puntos.

V. REACTIVOS SUMINISTRADOS

Reactivos	96 tests Kit	4x96 tests Kit	Código de Color	Reconstitución			
 Tubos recubiertos con anti-FSH (anticuerpos monoclonales)	2 x 48	8 x 48	rojo	Listo para uso			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRAZADOR: anti-FSH (anticuerpos monoclonales) marcado con I125 en tampón borato-PO ₄ con albúmina bovina, azida (<0,1%) y un colorante rojo inerte	Ab	¹²⁵ I	1 vial 5,5 ml 700 kBq	4 viales 5,5 ml 4x700 kBq	rojo	Listo para uso	
Ab	¹²⁵ I						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Calibrador cero en suero bovino y thymol	CAL	0	1 vial liofilizado	2 viales liofilizados	amarillo	Añadir 2 ml de agua destilada	
CAL	0						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibradores N = 1 a 6 (mirar los valores exactos en las etiquetas) en suero bovino y thymol	CAL	N	6 viales liofilizados	12 viales liofilizados	amarillo	Añadir 1 ml de agua destilada	
CAL	N						
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Solución de lavado (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 vial 10 ml	4 viales 10 ml	marrón	Diluir 70 x con agua destilada (utilizar agitador magnético)
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controles - N = 1 o 2 en suero humano y thymol.	CONTROL	N	2 viales liofilizados	4 viales liofilizados	plateado	Añadir 0,5 ml de agua destilada	
CONTROL	N						

Nota: 1. Para diluciones de muestras utilizar Calibrador cero.
2. 1 mUI de la preparación del calibrador **es** equivalente a 1 mUI 1st IS 92/510.

VI. MATERIAL NO SUMINISTRADO

El material mencionado a continuación es necesario y no esta incluido en el kit

1. Agua destilada
2. Pipetas de 50µl, 100 µl, 500µl, 1ml y 2 ml (Se recomienda el uso de pipetas precisas con puntas desechables de plástico)
3. Vortex
4. Agitador magnético
5. Agitador de tubos
6. Jeringa automática 5 ml (tipo Cornwall) para el lavado
7. Sistema de aspiración (opcional)
8. Contador de radiaciones gamma para medir I¹²⁵ (mínima eficiencia 70%)

VII. PREPARACIÓN REACTIVOS

- A. **Calibradores:** Reconstituir el calibrador cero con 2 ml de agua destilada y los otros calibradores con 1 ml de agua destilada.
- B. **Controles:** Reconstituir los controles con 0,5 ml de agua destilada.
- C. **Solución de lavado de trabajo:** Preparar el volumen necesario de Solución de lavado de trabajo mezclando 69 partes de agua destilada por 1 parte de Solución de lavado (70x). Utilizar un agitador magnético para

homogeneizar. Desechar la solución de lavado de trabajo no utilizada al final del día.

VIII. ALMACENAJE Y CADUCIDADES DE LOS REACTIVOS

- Antes de abrir ó reconstituir todos los componentes de los kits son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si se guardan a 2-8°C.
- Después de su reconstitución los calibradores y controles son estables durante 3 días a 2 – 8°C. Para periodos más largos, alícuotar y guardar a – 20°C como mucho 3 meses. Evitar congelar y descongelar sucesivamente.
- La solución de lavado de trabajo recién preparada solo debe utilizarse en el mismo día.
- Después del primer uso, el trazador es estable hasta la fecha de caducidad, si se guarda en el vial original cerrado a 2-8°C.
- Las alteraciones de los reactivos en el aspecto físico pueden indicar inestabilidad ó deterioro.

IX. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- Las muestras de suero ó plasma deben ser guardadas a 2 – 8°C.
- Si el ensayo no se realiza en 24hrs., almacenar las muestras a –20°C.
- Evitar congelar y descongelar sucesivamente.
- Suero ó plasma presentan resultados similares
 $Y \text{ (Suero)} = 1,00x \text{ (hep. plasma)} + 0,3 \quad r = 0,99 \quad n = 39$
 $Y \text{ (Suero)} = 1,02x \text{ (EDTA plasma)} + 0,3 \quad r = 0,99 \quad n = 39$

X. PROTOCOLO

- A. **Notas de manejo**
No utilizar el kit ó componentes después de la fecha de caducidad. No mezclar reactivos de diferente numero de lote. Llevar todos los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso.
Agitar minuciosamente todos los reactivos y muestras, agitándolos o girándolos suavemente. Con el fin de evitar ninguna contaminación utilizar puntas de pipetas desechables y limpias para la adición de cada reactivo y muestra.
El uso de pipetas de precisión ó equipamiento de dispensación automática mejorara la precisión. Respetar los tiempos de incubación.
Preparar la curva de calibración en cada ensayo, no utilizar los datos de un ensayo previo.

- B. **Protocolo**
 1. Marcar los tubos recubiertos por duplicado para cada unos de los estándares, muestras y controles. Para la determinación de las Cuentas Totales, marcar 2 tubos normales.
 2. Agitar brevemente los calibradores, controles y muestras y dispensar 100 µl de cada uno en sus respectivos tubos.
 3. Dispensar 50 µL del trazador en cada tubo, incluyendo los tubos no recubiertos destinados a las Cuentas Totales.
 4. Agitar suavemente la gradilla de tubos para eliminar cualquier burbuja pegada de las paredes de los tubos.
 5. Incubar durante 1 hora a temperatura ambiente en agitación constante (700 rpm).
 6. Aspirar (o decantar) el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales). Asegurarse que la punta de la pipeta de aspiración toca el fondo del tubo con el fin de aspirar todo el líquido.
 7. Lavar los tubos con 2 ml de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales) y aspirar (o decantar). Evitar la formación de espuma durante la adición de la Solución de lavado.
 8. Aspirar (o decantar) el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales)
 9. Lavar de nuevo con 2 ml de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales) y aspirar (o decantar). .
 10. Después del último lavado, dejar los tubos en posición inversa durante 2 minutos y aspirar el liquido restante.
 11. Medir la actividad de cada tubo durante 60 segundos en un Contador Gamma.

XI. CALCULO DE RESULTADOS

1. Calcular la media de los duplicados.
2. Representar en un gráfico semilogarítmico o lineal las c.p.m. (ordenada) de cada calibrador frente a las concentraciones de FSH (abscisa) y dibujar una curva de calibración por los puntos de calibración, rechazando los duplicados discordantes.
3. Leer la concentración para cada control y muestra por interpolación en la curva de calibración.
4. Métodos computarizados de proceso de resultados pueden ser utilizados para la construcción de la curva de calibración. Si se utiliza un sistema automático de calculo de resultados, se recomienda usar la representación gráfica “ 4 parámetros”.

XII. EJEMPLO DE RESULTADOS

Los datos mostrados a continuación sirven como ejemplo y nunca deberán ser usados como una calibración real.

FSH-IRMA		cpm	B/T (%)
Cuentas Totales		362200	100
Calibrador	0,0 mUI/ml	119	0,03
	0,7 mUI/ml	1265	0,35
	3,5 mUI/ml	2783	0,77
	10,4 mUI/ml	8400	2,32
	30,0 mUI/ml	28008	7,73
	100,0 mUI/ml	102364	28,26
	152,0 mUI/ml	160536	44,32

XIII. REALIZACIÓN Y LIMITACIONES

A. Limite de detección

Veinte calibradores cero fueron medidos en una curva con otros calibradores.
El limite de detección, definido como la concentración aparente resultante de dos desviaciones estándares sobre la media de enlace del calibrador cero, fue de 0,1 mUI/ml.

B. Especificidad

Hormonas con reacción cruzada se añadieron a un calibrador con valor FSH bajo y a un calibrador con valor FSH elevado. La respuesta aparente fue medida.

Hormona añadida	FSH CAL 1 mUI/ml	FSH CAL 5 mUI/ml
-	0,65	100
LH 300 mUI/ml	1,31	99,16
hCG 300000 mUI/ml	1,46	100,31
TSH 300 µUI/ml	0,98	98,31

C. Precisión

PRECISIÓN INTRA-ENSAYO				PRECISIÓN INTER-ENSAYO			
Suero	N	<X> ± SD (mUI/ml)	CV (%)	Suero	N	<X> ± SD (mUI/ml)	CV (%)
A	10	4,0 ± 0,1	1,8	A	20	15,0 ± 3,0	4,4
B	10	9,0 ± 0,2	2,0	B	20	41,9 ± 1,0	2,4
C	10	50,7 ± 0,5	1,1				

SD : Desviación Estándar; CV: Coeficiente de Variación

D. Exactitud

TEST DILUCIÓN			
Muestra	Dilución	Concent. Teórica (mUI/ml)	Concent. Medida (mUI/ml)
Suero 1	1/1	-	8,6
	1/2	4,3	4,1
	1/4	2,2	2
	1/8	1,1	1,1
	1/16	0,5	0,5
Suero 2	1/1	-	59,6
	1/2	29,8	31,3
	1/4	14,9	16,5
	1/8	7,5	8,2
	1/16	3,7	4,0
	1/32	1,9	2,0
	1/64	0,9	1,0

Las muestras fueron diluidas con calibrador cero.

TEST DE RECUPERACIÓN

Muestra	FSH añadido (mUI/ml)	FSH Recuperado (mUI/ml)	Recuperado (%)
Suero	6,4	6,2	97
	25,1	23,6	94
	88,8	86,1	97
Hep. plasma	6,4	7	109
	25,1	25,1	100
	88,8	96	108
EDTA plasma	6,4	7,3	114
	25,1	23,6	94
	88,8	84,1	95

E. Tiempo de espera entre la dispensación del último calibrador y la de la muestra

Como se muestra a continuación la precisión del ensayo se mantiene incluso en el caso de dispensar la muestra 45 minutos después de haberse adicionado el calibrador a los tubos cubiertos.

TIEMPO DE ESPERA

	0'	15'	30'	45'
Suero 1 (mUI/ml)	1,9	1,7	1,8	1,7
Suero 2 (mUI/ml)	4,2	4,3	4,2	4,2
Suero 3 (mUI/ml)	9,6	9,5	9,3	9,3
Suero 4 (mUI/ml)	52,0	52,0	52,0	53,0

F. Efecto gancho

Una muestra con FSH de 1000 mUI/ml presenta cuentas más elevadas que el último punto de calibración.

XIV. CONTROL DE CALIDAD INTERNO

- Si los resultados obtenidos para el Control 1 y/ó Control 2 no están dentro del rango especificado en la etiqueta del vial, los resultados obtenidos no podrán ser utilizados a no ser que se pueda dar una explicación convincente de dicha discrepancia
- Si es conveniente, - cada laboratorio puede utilizar sus propios pools de controles, lo cuales se guardan en alícuotas congeladas.
- Los criterios de aceptación de la diferencia entre los resultados de los duplicados de las muestras se apoyan en las prácticas de laboratorio corrientes.

XV. INTERVALOS DE REFERENCIA

Estos valores solamente sirven de guía; cada laboratorio tiene que establecer sus propios valores normales.
Alcance basados en percentiles de 2.5% & 97.5%

Identificación	Número de sujetos	Media (mUI/ml)	Rango (mUI/ml)
Niños (0 a 12 años)			
§ Muchachos	20	0,9	0,1 – 2,3
§ Muchachas	20	2,7	0,4 – 12,7
Púberes (12 a 18 años)	18	4,5	0,3 – 9,0
Adultos masculinos	69	4,2	1,3 – 8,1
Mujeres			
· Ciclo ovulatorio			
- Fase folicular (día –12 a -6)	34	6,1	1,8 – 9,4
- Pico ovulatorio (día 0)	48	11,9	3,4 – 33,1
- Fase luteínica (día +6 al +12)	63	4,3	1,2 – 13,4
· Postmenopáusicas	53	64,7	27,7 – 93,3

XVI. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Seguridad

Para uso solo en diagnóstico in vitro.
Este kit contiene I¹²⁵ (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 y animales.
Todo el manejo de producto radiactivo se hará en una área señalizada, diferente de la de paso regular. Deberá de utilizarse un libro de registros de productos radiactivos utilizados. El material de laboratorio, vidrio que podría estar contaminado radiactivamente deberá de descontaminarse para evitar la contaminación con otros isótopos.
Cualquier derramamiento radiactivo deberá ser limpiado de inmediato de acuerdo con los procedimientos de seguridad. Los desperdicios radiactivos deberán ser almacenados de acuerdo con las regulaciones y normativas vigentes de la legislación a la cual pertenezca 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 testados por métodos aprobados por la CEE y/o la FDA dando negativo a 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 ó 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 consideradas como potencialmente infecciosas.
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 ó utilizar cosméticos en el área de trabajo. No pipetear con la boca. Utilizar ropa de protección y guantes.

XVII. BIBLIOGRAFIA

1. CLARKE J.J., CUMMINS J.T. (1987)
Pulsatility of reproductive hormones: physiological basis and clinical implications.
Baillière's Clin. Endocrinol. Metab., 1:1

2. FILICORI M., SANTORO N., MERRIAN G.R., CROWLEY W.F. Jr., (1986)
Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 62:1136

3. MAIS V., CETEL N.S., MUSE K.N., QUIGLEY M.E., REID R.L., YEN S.S.C. (1987)
Hormonal dynamics during luteal-follicular transition.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:1109

4. SAWYER-STEFFAN J.E., LASLEY B.L., HOFF J.D., YEN S.S.C. (1982)
Comparison of in-vitro bioactivity and immunoreactivity of serum LH in normal cyclic and hypogonadal women treated with low doses of LH-RH.
J. Reprod. Fertil., 65:45

5. THOMAS C.M.G., SEGERS M.F.G. (1988)
Measurement of Serum hLH: hCG interference evaluated for two hLH-Specific IRMA kits.
Clin. Chem., 34:768

6. LOUMAYE E., VANKRIEKEN L., DEPREESTER S., PSALTI I., de COOMAN S., THOMAS K. (1989)
Hormonal changes induced by short-term administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and their consequences for embryo development.
Fertil. and Steril., 51:105

7. VERMES I., BONTE H.A., SLUIS VEER G., SCHOEMAKER J. (1991)
Interpretations of five monoclonal immunoassays of Lutropin and Follitropin: effects of normalization with WHO standard.
Clin. Chem., 37:415

8. DEMOULIN A., DUBOIS M., GERDAY C., GILLAIN D., LAMBOTTE R., FRANCHIMONT P. (1991)
Variation of luteinizing hormone serum concentration after exogenous human chorionic gonadotropin administration during ovarian stimulation.
Fertil. and Steril., 55:796

9. MASSA G., de ZECHER F., VANDERSCHUREN-LODEWYK K. (1992)
Serum levels of immunoreactive Inhibine, FSH and LH in human infants at Preterm and Term Birth.
Biol. of the Neonat., 61:150

10. DE HERTOOGH R., VANKRIEKEN L., THOMAS K. de GASPARO M. (1992)
Circhoral fluctuations of serum total renin, inhibin and related hormones around the mid-cycle in normal human females.
Hum. Reprod., 7:337

XVIII. RESUMEN DEL PROTOCOLO

	CUENTAS TOTALES (µl)	CALIBRADO RES (µl)	MUESTRA(S) CONTROL(S) (µl)
Calibradores (0 al 6)	-	100	-
Muestras, controles	-	-	100
Trazador	50	50	50
Incubación	1 hora a T.A. en agitación constante		
Separación	-	aspirar	
Solución de Lavado	-	2,0 ml	
Separación	-	aspirar	
Solución de Lavado	-	2,0 ml	
Separación	-	aspirar	
Contaje	Contar los tubos durante 60 segundos		

DIAsource Catalogo Nr : KIP0841 – KIP0844	P.I. Numero : 1700516/es	Revisión nr : 090427/1
--	-----------------------------	---------------------------

Διαβάστε ολόκληρο το πρωτόκολλο πριν από τη χρήση.

FSH-IRMA

I. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Κιτ ανοσοραδιομετρικού προσδιορισμού για την *in vitro* ποσοτική μέτρηση της ανθρώπινης θυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH) στον ορό και το πλάσμα.

II. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

A. Εμπορική ονομασία: Κιτ FSH-IRMA της DIASource

B. Αριθμός καταλόγου: KIP0841: 96 προσδιορισμοί
KIP0844: 4x96 προσδιορισμοί

Γ. Κατασκευάζεται από την: DIASource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

Για τεχνική βοήθεια ή πληροφορίες σχετικά με παραγγελίες επικοινωνήστε στα:
Τηλ.: +32 (0)67 88.99.99 Φαξ: +32 (0)67 88.99.96

III. ΚΛΙΝΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

Η μέτρηση των συγκεντρώσεων της LH και FSH στον ορό είναι σημαντική για τη διερεύνηση της γονιμότητας και ειδικά διαταραχών του άξονα υποθάλαμος/υπόφυση/γονάδες.

Τόσο η LH όσο και η FSH απεκκρίνονται από τα βασεόφιλα κύτταρα του προσθίου τμήματος της υπόφυσης ως αποτέλεσμα της απέκκρισης της εκλυτικής ορμόνης της γοναδοτροπίνης (GnRH) από κύτταρα του υποθαλάμου.

Στους ενήλικους, οι ορμόνες LH και FSH ελέγχουν τις γοναδικές λειτουργίες, κυρίως τη γαμετογένεση και την απέκκριση στεροειδών.

Τα επίπεδα κυκλοφορίας της FSH ελέγχονται από ένα φαινόμενο αρνητικής ανατροφοδότησης στον υποθάλαμο από στεροειδείς ορμόνες και γοναδικά πεπτίδια.

IV. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η εξέταση FSH-IRMA της DIASource είναι ένας ανοσοραδιομετρικός προσδιορισμός που βασίζεται σε διαχωρισμό επιστρωμένων σωληναρίων. Τα Mabs1, τα αντισώματα σύλληψης, προσκολλώνται στην κάτω και εσωτερική επιφάνεια του πλαστικού σωληναρίου. Οι βαθμονομητές ή τα δείγματα που προστίθενται στα σωληνάρια εμφανίζουν κατ' αρχήν χαμηλή συγγένεια προς τα Mabs1. Προσθήκη Mab2, του αντισώματος σηματοδότησης που είναι σηματοδωμένο με ¹²⁵I, θα ολοκληρώσει το σύστημα και θα πυροδοτήσει την ανοσολογική αντίδραση. Μετά την πλύση, η υπολειπόμενη ραδιενέργεια, που είναι δεσμευμένη στο σωληνάριο, αντανακλά τη συγκέντρωση του αντιγόνου. Η χρήση αρκετών διακριτών Mabs εμποδίζει την υπερειδικότητα.

V. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Αντιδραστήρια	Ποσότητα 96 προσδιο- ρισμοί	Ποσότητα 4x96 προσδιορι- σμοί	Χρωμα- τικός κωδικός	Ανασύσταση			
 Σωληνάρια επιστρωμένα με αντι FSH (μονοκλωνικά αντισώματα)	2 x 48	8 x 48	κόκκινο	Έτοιμο για χρήση			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> Αντι-FSH (μονοκλωνικά αντισώματα) σηματοδωμένα με ¹²⁵ I σε ρυθμιστικό διάλυμα βορικών-PO ₄ με βόδια ορολευκωματίνη, αζίδιο (<0,1%) και αδρανής κόκκινη χρωστική	Ab	¹²⁵ I	1 φιαλίδιο 5,5 ml 700 kBq	4 φιαλίδια 5,5 ml 4x700 kBq	κόκκινο	Έτοιμο για χρήση	
Ab	¹²⁵ I						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Μηδενικός βαθμονομητής σε βόειο ορό με θυμόλη	CAL	0	1 φιαλίδιο λυοφιλ.	2 φιαλίδια λυοφιλ.	κίτρινο	Προσθέστε 2 ml απεσταγμένο υ νερού	
CAL	0						
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Βαθμονομητές 1-6 σε βόειο ορό με θυμόλη (δείτε ακριβείς τιμές πάνω στις ετικέτες των φιαλιδίων)	CAL	N	6 φιαλίδια λυοφιλ.	12 φιαλίδια λυοφιλ.	κίτρινο	Προσθέστε 1 ml απεσταγμένο υ νερού	
CAL	N						
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Διάλυμα πλύσης (TRIS- HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 φιαλίδιο 10 ml	4 φιαλίδια 10 ml	καφέ	Αραιώστε 70 x με απεσταγμένο νερό (χρησιμοποιή στε μαγνητικό αναδευτήρα).
WASH	SOLN	CONC					
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Οροί ελέγχου 1 και 2 σε ανθρώπινο ορό με θυμόλη	CONTROL	N	2 φιαλίδια λυοφιλ.	4 φιαλίδια λυοφιλ.	ασημί	Προσθέστε 0,5 ml απεσταγμένο υ νερού	
CONTROL	N						

Σημείωση: 1. Χρησιμοποιείτε το μηδενικό βαθμονομητή για αραιώσεις ορών.
2. 1 mIU του βαθμονομητή είναι ισοδύναμο με 1 mIU του 1ου IS 92/510.

VI. ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Τα ακόλουθα υλικά απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται στο κιτ:

- Απεσταγμένο νερό
- Πιπέτες για διανομή: 50 μl, 100 μl, 500 μl, 1 ml και 2 ml. (συνιστάται η χρήση πιπετών ακριβείας με αναλώσιμα πλαστικά ρύγχη).
- Αναμεικτής στροβιλισμού
- Μαγνητικός αναδευτήρας
- Συσκευή ανάδευσης σωληναρίων
- Αυτόματη σύριγγα των 5 ml (τύπου Cornwall) για πλύση
- Σύστημα αναρρόφησης (προαιρετικό).
- Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοσδήποτε μετρητής γ ακτινοβολίας με δυνατότητα μέτρησης της ¹²⁵I (ελάχιστη απόδοση 70%).

VII. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

- A. Βαθμονομητές:** Ανασυστήστε το μηδενικό βαθμονομητή με 2 ml απεσταγμένου νερού και άλλους βαθμονομητές με 1 ml απεσταγμένου νερού.
- B. Οροί ελέγχου:** Ανασυστήστε τους ορούς ελέγχου με 0,5 ml απεσταγμένου νερού.
- Γ. Διάλυμα πλύσης εργασίας:** Προετοιμάστε επαρκή όγκο διαλύματος πλύσης εργασίας με προσθήκη 69 όγκων απεσταγμένου νερού σε 1 όγκο διαλύματος πλύσης (70x). Χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα για την ομογενοποίηση. Απορρίψτε το μη χρησιμοποιημένο διάλυμα πλύσης εργασίας στο τέλος της ημέρας.

VIII. ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΛΗΞΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

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

IX. ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- § Ο ορός και το πλάσμα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2-8° C.
- § Εάν η εξέταση δεν πραγματοποιηθεί εντός 24 ωρών, συνιστάται η φύλαξη σε κλάσματα/δόσεις μιας χρήσης στους -20° C.
- § Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.
- § Ο ορός, το ηπαρινισμένο πλάσμα ή το πλάσμα με EDTA παρέχουν παρόμοια αποτελέσματα.
- Y (ορός) = 1,00 x (ηπαρ. πλάσμα) + 0,3 r = 0,99 n = 39
- Y (ορός) = 1,02x (πλάσμα με EDTA) + 0,3 r = 0,99 n = 39

X. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

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

B. Διαδικασία

- Σημάνετε επιστρωμένα σωληνάρια εις διπλούν για κάθε βαθμονομητή, ορό ελέγχου και δείγμα. Για τον προσδιορισμό των μετρήσεων του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total"), σημάνετε 2 κοινά (μη επιστρωμένα) σωληνάρια.
- Αναμείξτε για λίγο (με αναμεικτή στροβιλισμού τύπου vortex) βαθμονομητές, δείγματα και ορούς ελέγχου και διανείμετε 100 μl από έκαστο στα αντίστοιχα σωληνάρια.
- Διανείμετε 50 μl ιχνηθέτη αντι-FSH-¹²⁵I σε κάθε σωληνάριο, συμπεριλαμβανοντας τα μη επιστρωμένα σωληνάρια για τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total").
- Ανακινήστε απαλά με το χέρι τη βάση στήριξης των σωληναρίων για να απελευθερώσετε τυχόν παγιδευμένες φυσαλίδες αέρα.
- Επωάστε επί 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου σε αναδευτήρα σωληναρίων στις 700 rpm.

Γ. Ακρίβεια

ΓΙΑ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ				ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ			
Ορός	N	<X> ± T.A. mIU/ml	Σ.Α. (%)	Ορός	N	<X> ± T.A. (mIU/ml)	Σ.Α. (%)
A	10	4,0 ± 0,1	1,8	A	20	15,0 ± 3,0	4,4
B	10	9,0 ± 0,2	2,0	B	20	41,9 ± 1,0	2,4
C	10	50,7 ± 0,5	1,1				

Δ. Ορθότητα

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ			
Δείγμα	Προσθεθείσα FSH (mIU/ml)	Ανακτηθείσα FSH (mIU/ml)	Ανάκτηση (%)
Ορός	6,4	6,2	97
	25,1	23,6	94
	88,8	86,1	97
Ηπαρινισμένο πλάσμα	6,4	7	109
	25,1	25,1	100
	88,8	96	108
Πλάσμα με EDTA	6,4	7,3	114
	25,1	23,6	94
	88,8	84,1	95

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΡΑΙΩΣΗΣ			
Δείγμα	Αραίωση	Θεωρητική συγκέντρωση (mIU/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (mIU/ml)
Ορός 1	1/1	-	8,6
	1/2	4,3	4,1
	1/4	2,2	2
	1/8	1,1	1,1
	1/16	0,5	0,5
Ορός 2	1/1	-	59,6
	1/2	29,8	31,3
	1/4	14,9	16,5
	1/8	7,5	8,2
	1/16	3,7	4,0
	1/32	1,9	2,0
	1/64	0,9	1,0

Τα δείγματα αραιώθηκαν με μηδενικό βαθμονομητή.

Ε. Μεσοδιάστημα

Όπως φαίνεται στη συνέχεια, τα αποτελέσματα του προσδιορισμού παραμένουν αξιόπιστα ακόμα και όταν διανέμεται ένα δείγμα 45 λεπτά μετά την προσθήκη του βαθμονομητή στα επιστρωμένα σωληνάρια.

ΜΕΣΟΔΙΑΣΤΗΜΑ				
	0'	15'	30'	45'
Ορός 1 (mIU/ml)	1,9	1,7	1,8	1,7
Ορός 2 (mIU/ml)	4,2	4,3	4,2	4,2
Ορός 3 (mIU/ml)	9,6	9,5	9,3	9,3
Ορός 4 (mIU/ml)	52,0	52,0	52,0	53,0

ΣΤ. Φαινόμενο αγκίστρου (hook)

Δείγμα που εμβολιάστηκε με FSH έως 1000 mIU/ml δίνει υψηλότερες μετρήσεις από το σημείο του τελευταίου βαθμονομητή.

XIV. ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

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

6. Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ["total"]). Βεβαιωθείτε ότι το πλαστικό ρύγχος του αναρροφητή φθάνει στον πυθμένα του επιστρωμένου σωληναρίου προκειμένου να αφαιρεθεί όλη η ποσότητα του υγρού.
7. Πλύνετε τα σωληνάρια με 2 ml διαλύματος πλύσης εργασίας (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ["total"]). Αποφύγετε το σχηματισμό αφρού κατά τη διάρκεια της προσθήκης του διαλύματος πλύσης εργασίας.
8. Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ["total"]).
9. Πλύνετε τα σωληνάρια και πάλι με 2 ml διαλύματος πλύσης (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ["total"]) και αναρροφήστε (ή μεταγγίστε).
10. Μετά την τελευταία πλύση, αφήστε τα σωληνάρια να σταθούν σε όρθια θέση για δύο λεπτά και αναρροφήστε τη σταγόνα υγρού που απομένει.
11. Μετρήστε τα σωληνάρια σε μετρητή γ ακτινοβολίας για 60 δευτερόλεπτα.

XI. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

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

XII. ΤΥΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

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

FSH-IRMA		cpm	B/T (%)
Κρούσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵ I ("total")		362200	100
Βαθμονομη- τής	0,0 mIU/ml	119	0,03
	0,7 mIU/ml	1265	0,35
	3,5 mIU/ml	2783	0,77
	10,4 mIU/ml	8400	2,32
	30,0 mIU/ml	28008	7,73
	100,0 mIU/ml	102364	28,26
	152,0 mIU/ml	160536	44,32

XIII. ΑΠΟΔΟΣΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

A. Όριο ανίχνευσης

Μετρήθηκαν είκοσι μηδενικοί βαθμονομητές μαζί με ένα σύνολο άλλων βαθμονομητών. Το όριο ανίχνευσης, οριζόμενο ως η φαινομενική συγκέντρωση δύο τυπικών αποκλίσεων πάνω από τις μέσες μετρήσεις σε μηδενική δέσμευση, ήταν 0,1 mIU/ml.

B. Ειδικότητα

Ορμόνες διασταυρούμενης αντιδραστικότητας προστέθηκαν σε ένα βαθμονομητή χαμηλής και υψηλής τιμής FSH. Μετρήθηκε η φαινομενική απόκριση της FSH.

Προσθεθείσα ορμόνη	FSH CAL 1 mIU/ml	FSH CAL 5 mIU/ml
-	0,65	100
LH 300 mIU/ml	1,31	99,16
hCG 300000 mIU/ml	1,46	100,31
TSH 300 mIU/ml	0,98	98,31

XV. TIMEΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Οι τιμές παρέχονται πιο κάτω μόνον ως οδηγός. Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να καθιερώσει το δικό του πεδίο φυσιολογικών τιμών.
Το πεδίο τιμών εκφράζεται ως ποσοστά επί τοις εκατό 2,5% έως 97,5%.

Ταυτοποίηση	Αριθμός ατόμων	Μέση τιμή (mIU/ml)	Πεδίο τιμών (mIU/ml)
Παιδιά (0 έως 12 ετών)			
§ Αγόρια	20	0,9	0,1 – 2,3
§ Κορίτσια	20	2,7	0,4 – 12,7
Έφηβοι (12 έως 18 ετών)	18	4,5	0,3 – 9,0
Άρρενες ενήλικοι	69	4,2	1,3 – 8,1
Γυναίκες			
· Κύκλοι ωορρηξίας			
- Ωοθυλακική φάση (ημέρα –12 έως -6)	34	6,1	1,8 – 9,4
- Κορυφή ωορρηξίας (ημέρα 0)	48	11,9	3,4 – 33,1
- Ωχρινική φάση (ημέρα +6 έως +12)	63	4,3	1,2 – 13,4
· Μετεμηνόπαυσιακές	53	64,7	27,7 – 93,3

XVI. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Ασφαλείας
Μόνο για διαγνωστική χρήση in vitro.
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 υπόκειται 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 ασφάλειας από ραδιενέργεια. Τα ραδιενεργά απόβλητα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς και τις κατευθυντήριες οδηγίες των αρχών που έχουν δικαιοδοσία στο εργαστήριο. Η τήρηση των βασικών κανόνων ασφάλειας από ραδιενέργεια παρέχει επαρκή προστασία.
Τα συστατικά ανθρώπινου αίματος που περιλαμβάνονται στο kit αυτό έχουν ελεγχθεί με μεθόδους εγκεκριμένες στην Ευρώπη ή/και από τον FDA και έχει διαπιστωθεί ότι είναι αρνητικά ως προς την παρουσία HBsAg, αντι-HCV, αντι-HIV-1 και 2. Καμία γνωστή μέθοδος δεν είναι δυνατό να παρέχει πλήρη διασφάλιση ότι παράγωγα του ανθρώπινου αίματος δε θα μεταδώσουν ηπατίτιδα, AIDS ή άλλες λοιμώξεις. Επομένως, ο χειρισμός αντιδραστηρίων, δειγμάτων ορού ή πλάσματος θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες περί ασφάλειας.

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

XVII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. CLARKE J.J., CUMMINS J.T. (1987)
Pulsatility of reproductive hormones: physiological basis and clinical implications.
Baillière's Clin. Endocrinol. Metab., 1:1

2. FILICORI M., SANTORO N., MERRIAN G.R., CROWLEY W.F. Jr., (1986)
Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 62:1136

3. MAIS V., CETEL N.S., MUSE K.N., QUIGLEY M.E., REID R.L., YEN S.S.C. (1987)
Hormonal dynamics during luteal-follicular transition.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:1109

4. SAWYER-STEFFAN J.E., LASLEY B.L., HOFF J.D., YEN S.S.C. (1982)
Comparison of in-vitro bioactivity and immunoreactivity of serum LH in normal cyclic and hypogonadal women treated with low doses of LH-RH.
J. Reprod. Fertil., 65:45

5. THOMAS C.M.G., SEGERS M.F.G. (1988)
Measurement of Serum hLH: hCG interference evaluated for two hLH-Specific IRMA kits.
Clin. Chem., 34:768

6. LOUMAYE E., VANKRIEKEN L., DEPREESTER S., PSALTI I., de COOMAN S., THOMAS K. (1989)
Hormonal changes induced by short-term administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and their consequences for embryo development.
Fertil. and Steril., 51:105

7. VERMES I., BONTE H.A., SLUIS VEER G., SCHOEMAKER J. (1991)
Interpretations of five monoclonal immunoassays of Lutropin and Follitropin: effects of normalization with WHO standard.
Clin. Chem., 37:415

8. DEMOULIN A., DUBOIS M., GERDAY C., GILLAIN D., LAMBOTTE R., FRANCHIMONT P. (1991)
Variation of luteinizing hormone serum concentration after exogenous human chorionic gonadotropin administration during ovarian stimulation.
Fertil. and Steril., 55:796

9. MASSA G., de ZECHER F., VANDERSCHUREN-LODEWYK K. (1992)
Serum levels of immunoreactive Inhibin, FSH and LH in human infants at Preterm and Term Birth.
Biol. of the Neonat., 61:150

10. DE HERTOOGH R., VANKRIEKEN L., THOMAS K. de GASPARO M. (1992)
Circhoral fluctuations of serum total renin, inhibin and related hormones around the mid-cycle in normal human females.
Hum. Reprod., 7:337

XVIII. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

	ΚΡΟΥΣΕΙΣ "TOTAL" ml	ΒΑΘΜΟΝΟΜΗ- ΤΕΣ ml	ΔΕΙΓΜΑ(ΤΑ) ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ ml
Βαθμονομητές (0-6) Δείγματα, οροί ελέγχου Ιχνηθέτης	- 0,05	0,1 - 0,05	- 0,1 0,05
Επώαση	1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου με ανάδευση στις 700 rpm		
Διαχωρισμός Διάλυμα πλύσης Διαχωρισμός Διάλυμα πλύσης Διαχωρισμός	- - - - -	Αναρρόφηση (ή μετάγγιση) 2,0 Αναρρόφηση (ή μετάγγιση) 2,0 Αναρρόφηση (ή μετάγγιση)	
Μέτρηση	Μέτρηση σωληναρίων επί 60 δευτερόλεπτα		

Αρ. καταλόγου DIASource: KIP0841 – KIP0844	Αριθμός P.I.: 1700516/el	Ημερομηνία έκδοσης: 090427/1
---	-----------------------------	---------------------------------



Прочетете целия протокол преди употреба

FSH-IRMA

I. УПОТРЕБА

Имунорадиометричен набор за количествени измервания *in vitro* на човешки фоликулостимулиращ хормон (FSH) в серум и плазма.

II. ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

A. Патентовано име:	DIAsource FSH-IRMA Kit	
B. Каталожен номер:	KIP0841:	96 теста
	KIP0844:	4 x 96 теста
C. Произведено от:	DIAsource ImmunoAssays S.A. Rue De l'Industrie 8 B-1400 Nivelles, Belgium.	

За техническа помощ или поръчка:
Тел.: +32 (0)67 88.99.99 Факс: +32 (0)67 88.99.96

III. КЛИНИЧЕН ПРЕГЛЕД

Измерването на концентрациите на LH и FSH в серума е от есенциално значение за изследване на фертилитета и особено на нарушенията на хипоталамо-хипофизарно-гонадната ос.

Както LH, така и FSH се секретират от базофилните клетки в предния дял на хипофизата в резултат на секрецията на гонадотропин-освобождаващ хормон (GnRH) от клетките на хипоталамуса.

При възрастни индивиди хормоните LH и FSH контролират гонадната функция, основно гаметогенезата и стероидната секреция.

Нивата на FSH в кръвообращението се контролират чрез отрицателна обратна връзка с хипоталамуса посредством стероидните хормони и гонадните пептиди.

IV. ПРИНЦИПИ НА МЕТОДА

DIAsource FSH-IRMA е имунорадиометрично изследване на база на сепарация на покрити епруветки. Mabs1 (моноклонални антитела 1), които са прихващащи антитела, са разположени по долната и вътрешната повърхност на пластмасовата епруветка. Калибраторите или пробите, които се добавят към епруветките отначало показват слаб афинитет към Mabs1. Добавянето на Mabs2, които са сигнални антитела, маркирани с ¹²⁵I, завършват системата и пускат в ход имунологичната реакция. След измиване остатъчната радиоактивност, свързана с епруветката, отразява антигенната концентрация. Използването на няколко различни Mabs предотвратява развитието на хиперспецифичност.

V. ИЗПОЛЗВАНИ РЕАГЕНТИ

Реагенти		Количество во 96 теста	Количество о 4 x 96 теста	Цвете и код	Приготвяне			
 Епруветки, покрити с анти- FSH (моноклонални антитела)		2 x 48	8 x 48	червен	Готов за употреба			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>125I</td></tr></table> Анти-FSH ^{125 I} (моноклонални антитела) в боратен – PO ₄ буфер със волски серумен албумин, натриев азид (<0.1%) и инертна червена боя		Ab	125I	1 флакон 5.5 ml 700 kBq	4 флакона 5.5 ml 4 x 700 kBq	червен	Готов за употреба	
Ab	125I							
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Нулев Калибратор във волски серум с тимол		CAL	0	1 флакон лиофилизи рани	2 флакона лиофилизи рани	жълт	Добавете 2 ml дестилирана вода	
CAL	0							
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Калибратори 1-6 във волски серум с тимол (виж точните стойности на етикетите на флаконите)		CAL	N	6 флакона лиофилизи рани	12 флакона лиофилизи рани	жълт	Добавете 1 ml дестилирана вода	
CAL	N							
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Измиващ разтвор (TRIS-HCl)		WASH	SOLN	CONC	1 флакон 10 ml	4 флакона 10 ml	кафяв	Разредете 70x с дестилирана вода (използвайте магнитен сепаратор)
WASH	SOLN	CONC						
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Контроли 1 и 2 в човешки серум с тимол		CONTROL	N	2 флакона лиофилизи рани	4 флакона лиофилизи рани	сребър ен	Добавете 0.5 ml дестилирана вода	
CONTROL	N							

Забележка: 1. Използвайте нулевия калибратор за серумните разреждания.
2. 1 mIU от калибрирания препарат е еквивалентен на 1 mIU от 1st IS 92/510.

VI. СРЕДСТВА, КОИТО НЕ СЕ ОСИГУРЯВАТ

Следните материали са необходими, но не се осигуряват в набора:

- Дестилирана вода
- Пипети от: 50 µl, 100 µl, 500 µl, 1 ml и 2 ml (препоръчва се използването на прецизни пипети с крайници за еднократна употреба).
- Завихрящ смесител
- Магнитен сепаратор
- Клатещо устройство за епруветки
- 5 ml автоматична спринцовка (тип Cornwall) за измиване
- Аспирационна система (по избор).
- Всякакъв гама брояч, който може да измери употребеното количество ¹²⁵I (минимален капацитет от 70%)

VII. ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТА

- А. Калибратори:** Реконституирайте нулевия калибратор с 2 ml дестилирана вода, а другия калибратор – с 1 ml дестилирана вода.
- В. Контроли:** Реконституирайте контролите с 0.5 ml дестилирана вода.
- С. Работен измиващ разтвор:** Подгответе адекватен обем от работния измиващ разтвор чрез добавянето на 69 обема дестилирана вода към 1 обем от измиващия разтвор (70x). Използвайте магнитен сепаратор, за да хомогенизирате. Изхвърлете неупотребеното количество от работния измиващ разтвор в края на деня.

VIII. СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

- Всички компоненти на кита са стабилни до датата на срока на годност, посочен на опаковката, при температура на съхранение от 2 °C до 8°C преди отваряне или реконституиране.
- След реконституиране, калибраторите и контролите са стабилни за срок от 3 дни при температури 2-8°C. За по-дълги срокове на съхранение, се определя кратно и се съхранява при температура -20 °C за максимум 3 месеца. Избягвайте последващи цикли на замразяване-размразяване.
- Прясно приготвения Работен измиващ разтвор трябва да бъде използван същия ден.
- След първата употреба, трейсера е стабилен до изтичане срока на годност, ако се съхранява в оригиналния добре затворен флакон при температури 2-8°C.
- Промени във физическия вид на реагентите на кита индицират нестабилност или негодност.

IX. СЪБИРАНЕ НА ПРОБИТЕ И ОБРАБОТКА

- Серумът и плазмата трябва да се съхраняват при температури 2 – 8°C.
- Ако тестът не се направи в рамките на 24 часа, се препоръчва съхранение при температура -20°C.
- Избягвайте последващи цикли на замразяване-размразяване.
- Серумът, хепаринизираната плазма или плазмата с EDTA показват подобни резултати.

$$Y(\text{серум}) = 1,00x(\text{хепаринизирана плазма}) + 0,3$$
$$Y(\text{серум}) = 1,02x(\text{плазма с EDTA}) + 0,3$$

$$r = 0,99$$
$$r = 0,99$$

$$n = 39$$
$$n = 39$$

X. ПРОЦЕДУРА

А. Общи бележки
Не използвайте кита или компонентите му след датата на изтичане срока на годност. Не смесвайте материали от различни партии китове. Преди употреба оставете всички реагенти на стайна температура. Внимателно смесвайте всички реагенти с пробите чрез нежно раклащане или въртеливо размесване. За да избегнете кръстосана контаминация, използвайте чист пипетен крайник за еднократна употреба за добавянето на всеки реагент към съответната проба. Високо прецизираните пипети или автоматичните пипети биха подобрили точността. Съобразявайте се с времето за инкубация. Подгответе калибрационна крива за всяко измерване и не използвайте данни от предишни измервания.

- В. Процедура**
- Означете две по две покритите епруветки за всеки калибратор, контрола и проба. За определяне на общия брой импулси, обозначете 2 нормални епруветки.
 - Разклатете за кратко време калибраторите, контролите и пробите и разпределете по 100 µl от всяко в съответните епруветки.
 - Разпределете 50 µl от анти-FSH-¹²⁵I трейсер във всяка епруветка, включително и в епруветките без покритие за общия брой импулси.
 - Разтърсете нежно с ръка стойката с епруветките, за да освободите някое остатъчно въздушно мехурче.
 - Инкубирайте за 1 час при стайна температура в клатещо устройство за епруветки (700 оборота в минута).
 - Аспирирайте (или прелейте) съдържанието на всяка епруветка (освен епруветките за определяне на общия брой импулси). Уверете се, че пластмасовият край на аспиратора достига дъното на покритата епруветка, за да може да отстрани цялата течност.
 - Изплакнете епруветките с 2 ml от Измиващия разтвор (освен епруветките за определяне на общия брой импулси). Избягвайте получаването на пяна по време на добавянето на Работния измиващ разтвор.
 - Аспирирайте (или прелейте) съдържанието на всяка епруветка (освен епруветките за определяне на общия брой импулси).

9. Изплакнете отново епруветките с 2 ml от Измивания разтвор (освен епруветките за определяне на общия брой импулси) и аспирирайте (или прелейте).
10. След последното изплакване, оставете епруветките да стоят обърнати нагоре за две минути и аспирирайте останалите капчици от течността.
11. Отчетете епруветките в гама брояч за 60 секунди.

XI. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

1. Изчислете средното аритметично на резултатите, получени от две по две епруветките.
2. На полулогаритмична или линейна диаграма върху графична хартия нанесете (на ординатата) броят на минута за всеки калибратор (общ брой импулси в минута) спрямо (на абсцисата) съответната концентрация на FSH и начертайте калибрационна крива през калибрационните точки като не включвате точките, които очевидно не принадлежат към тази крива.
3. Прочетете концентрациите за всяка контрола и проба чрез интерполиране върху калибрационната крива.
4. Тези изчисления могат да се улеснят чрез асистирано редуциране на данните посредством компютър. Ако се използва автоматична обработка на резултатите, се препоръчва прилагането на 4-параметрова логистична функционална крива.

XII. ХАРАКТЕРНИ ДАННИ

Данните, изложени по-долу са само за илюстрация и никога не бива да се използват вместо истинската калибрационна крива.

FSH-IRMA		cpm	B/T (%)
Общ брой		362200	100
Калибратор	0,0 mIU/ml	207	0,03
	0,7 mIU/ml	533	0,35
	3,5 mIU/ml	1165	0,77
	10,4 mIU/ml	3821	2,32
	30,0 mIU/ml	12920	7,73
	100,0 mIU/ml	50053	28,26
	152,0 mIU/ml	93732	44,32

XIII. ИЗПЪЛНЕНИЕ И ОГРАНИЧЕНИЯ

A. Определен лимит

Двадесет нулеви калибратора са били изпитани заедно с комплект от други калибратори. Определения лимит, дефиниран като явната концентрация на две стандартни отклонения над средния брой при нулево свързване, е бил 0,1 mIU/ml.

B. Специфичност

Хормони с кръстосана реактивност са добавени към калибратор за ниски и високи стойности на FSH. Явният FSH отговор е измерен.

добавен хормон	FSH CAL 1 mIU/ml	FSH CAL 5 mIU/ml
-	0,65	100
LH 300 mIU/ml	1,31	99,16
hCG 300000 mIU/ml	1,46	100,31
TSH 300 µIU/ml	0,98	98,31

C. Прецизност

ПО ВРЕМЕ НА ИЗПИТВАНЕТО МЕЖДУ ИЗПИТВАНЕТО

Серум	N	<X>±S.D. mIU/ml	CV (%)	Серум	N	<X>±S.D. mIU/ml	CV (%)
A	10	4,0 ± 0,1	1,8	A	20	15,0±3,0	4,4
B	10	9,0 ± 0,2	2,0	B	20	41,9±1,0	2,4
C	10	50,7 ± 0,5	1,1				

D. Точност

ВЪЗСТАНОВИТЕЛЕН ТЕСТ

Проба	Добавен FSH (mIU/ml)	Възстановен FSH (mIU/ml)	Възстановяване (%)
-------	-------------------------	-----------------------------	-----------------------

Серум	6,4	6,2	97
	25,1	23,6	94
	88,8	86,1	97
Хепаринизирана плазма	6,4	7	109
	25,1	25,1	100
	88,8	96	108
Плазма с EDTA	6,4	7,3	114
	25,1	23,6	94
	88,8	84,1	95

ТЕСТ С РАЗРЕЖДАНЕ

Проба	Разреждане	Теоретична концентрация (mIU/ml)	Измерена концентрация (mIU/ml)
Серум 1	1/1	-	8,6
	1/2	4,3	4,1
	1/4	2,2	2
	1/8	1,1	1,1
	1/16	0,5	0,5
Серум 2	1/1	-	59,6
	1/2	29,8	31,3
	1/4	14,9	16,5
	1/8	7,5	8,2
	1/16	3,7	4,0
	1/32	1,9	2,0
	1/64	0,9	1,0

Пробите са били разредени с нулев калибратор.

E. Закъснение

Както е показано по-долу, резултатите от изпитването остават точни дори когато пробата е разпределена 45 минути след като калибраторът е бил добавен към покритата епруветка.

	0'	15'	30'	45'
Серум 1 (mIU/ml)	1,9	1,7	1,8	1,7
Серум 2 (mIU/ml)	4,2	4,3	4,2	4,2
Серум 3 (mIU/ml)	9,6	9,5	9,3	9,3
Серум 4 (mIU/ml)	52,0	52,0	52,0	53,0

F. Ефект на кукичката

Пробите, съдържащи до 1000 mIU/ml FSH, дават по-високи резултати спрямо последната точка на калибриране.

XIV. ВЪТРЕШЕН КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

- Ако резултатите, получени за Контрола 1 и/или Контрола 2 не са в рамките на нивото, указано на етикета на флакона, то резултатите не могат да бъдат използвани, освен ако не се предостави задоволително обяснение на това несъответствие.
- По желание, всяка лаборатория може да си направи собствен комплект от контролни проби, които трябва да се съхраняват замразени в кратни съотношения.
- Критериите за приемане на разликата от двойните резултати на пробите трябва да се опират на Добрата Лабораторна Практика.

XV. РЕФЕРЕНТНИ ИНТЕРВАЛИ

Стойностите, показани по-долу, са предоставени само за напътствие; всяка лаборатория трябва да установи свои собствен нормален обхват на стойности. Обхватът се изразява като 2.5% до 97.5% персентила.

Идентификация	Брой обекти	Средно (mIU/ml)	Обхват (mIU/ml)
Деца (от 0 до 12 години)			
• Момчета	20	0,9	0,1 – 2,3
• Момичета	20	2,7	0,4 – 12,7
В пубертетна възраст (от 12 до 18 години)	18	4,5	0,3 – 9,0
Възрастни мъже	69	4,2	1,3 – 8,1
Жени			
Овулаторни цикли			
- Фоликуларна фаза (ден -12 до -6)	34	6,1	1,8 – 9,4
- Овулаторен пик (ден 0)	49	11,9	3,4 – 33,1
- Лутеална фаза (ден +6 до +12)	63	4,3	1,2 – 13,4
Постменопаузален период	53	64,7	27,7 – 93,3

XVI. ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Безопасност

Само за *in vitro* диагностика.
Този набор съдържа ¹²⁵I (полуживот: 60 дни), емитиращ йонизиращи X (28 keV) и γ (35.5 keV) лъчения.
Този радиоактивен продукт може да се пренася и да се използва само от оторизирани лица; покупката, съхранението, употребата и размяната на радиоактивни продукти са предмет на законодателството на държавата, на крайния потребител. Този продукт не бива в никакъв случай да се прилага на хора или животни.

Боравенето с радиоактивния продукт трябва да се извършва в определена за целта територия, далеч от регулярни зони на преминаване. В лабораторията трябва да се поддържа дневник за получаването и съхранението на радиоактивни материали. Лабораторната екипировка и съклария, които могат да бъдат контаминирани с радиоактивни субстанции, трябва да бъдат отделени с цел да се избегне кръстосана контаминация с различни радионуклиди.

Всякакви радиоактивни пръски трябва да се почистват незабавно в съответствие с процедурите за радиационна безопасност. Радиоактивните отпадъци трябва да се изхвърлят, следвайки местните наредби и ръководства на властите, упражняващи юрисдикцията, над лабораториите. Придържането към основните правила за радиационна безопасност осигуряват адекватна защита.

Човешките кръвни компоненти, включени в кита, са били тествани чрез одобрени от Европейски и/или FDA (Американска агенция по храните и лекарствата) методи и са дали отрицателен резултат за HbsAg, анти-HCV, анти-HIV-1 и 2. Няма известен метод, който да дава пълна гаранция за това, че човешките кръвни деривати не пренасят хепатит, СПИН или други инфекции. Ето защо, боравенето със реагентите, серумните или плазмените проби трябва да бъде в съответствие с местните процедури по безопасност. Всички животински продукти и деривати са били събирани от здрави животни. Волските компоненти са с произход от страни, където BSE (волска серумна енцефалопатия) не е била установявана. Независимо от това, компонентите, съдържащи животински субстанции трябва да се третират като потенциално инфекциозни.

Избягвайте какъвто и да било кожен контакт с реагентите (съдържат натриев азид като консервант). Азидът в този кит може да реагира с оловото и медта във водопроводните инсталации като по този начин се получават силно експлозивни метални азиди. По време на измивния етап, промийте със силна и обилна струя вода канализацията, за да избегнете формирането на азиди.

Не пушете, не пийте, не яжте и не си слагайте козметика в работната територия. Не пипетирайте с уста. Използвайте защитно облекло и ръкавици за еднократна употреба.

XVII. БИБЛИОГРАФИЯ

1. CLARKE J.J., CUMMINS J.T. (1987)
Pulsatility of reproductive hormones: physiological basis and clinical implications.
Baillière's Clin. Endocrinol. Metab., 1:1

2. FILICORI M., SANTORO N., MERRIAN G.R., CROWLEY W.F. Jr., (1986)
Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 62:1136

3. MAIS V., CETEL N.S., MUSE K.N., QUIGLEY M.E., REID R.L., YEN S.S.C. (1987)
Hormonal dynamics during luteal-follicular transition.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:1109

4. SAWYER-STEFFAN J.E., LASLEY B.L., HOFF J.D., YEN S.S.C. (1982)
Comparison of in-vitro bioactivity and immunoreactivity of serum LH in normal cyclic and hypogonadal women treated with low doses of LH-RH.
J. Reprod. Fertil., 65:45

5. THOMAS C.M.G., SEGERS M.F.G. (1988)
Measurement of Serum hLH: hCG interference evaluated for two hLH-Specific IRMA kits.
Clin. Chem., 34:768

6. LOUMAYE E., VANKRIEKEN L., DEPREESTER S., PSALTI I., de COOMAN S., THOMAS K. (1989)
Hormonal changes induced by short-term administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and their consequences for embryo development.
Fertil. and Steril., 51:105

7. VERMES I., BONTE H.A., SLUIS VEER G., SCHOEMAKER J. (1991)
Interpretations of five monoclonal immunoassays of Lutropin and Follitropin: effects of normalization with WHO standard.
Clin. Chem., 37:415

8. DEMOULIN A., DUBOIS M., GERDAY C., GILLAIN D., LAMBOTTE R., FRANCHIMONT P. (1991)
Variation of luteinizing hormone serum concentration after exogenous human chorionic gonadotropin administration during ovarian stimulation.
Fertil. and Steril., 55:796

9. MASSA G., de ZECHER F., VANDERSCHUREN-LODEWYK K. (1992)
Serum levels of immunoreactive Inhibin, FSH and LH in human infants at Preterm and Term Birth.
Biol. of the Neonat., 61:150

10. DE HERTOOGH R., VANKRIEKEN L., THOMAS K. de GASPARO M. (1992)
Circhoral fluctuations of serum total renin, inhibin and related hormones around the mid-cycle in normal human females.
Hum. Reprod., 7:337

XVIII. ОБОБЩЕНИЕ НА ПРОТОКОЛА

	ОБЩА АКТИВНОСТ ml	КАЛИБРАТОРИ ml	ПРОБА (II) КОНТРОЛИ ml
Калибратори (0-6)	-	0.1	-
Проби, контроли	-	-	0.1
Трейсър	0.05	0.05	0.05
Инкубация	1 час при стайна температура с разклащане 700 оборота в минута		
Сепарация	-	аспирирайте (или прелейте)	
Измиваш разтвор	-	2.0	
Сепарация	-	аспирирайте (или прелейте)	
Измиваш разтвор	-	2.0	
Сепарация	-	аспирирайте (или прелейте)	
Броене	Отчетете епруветките за 60 секунди		

DIAsource каталог номер: KIP 0841 – KIP 0844	P.I. номер: 1700516/bu	Номер на ревизия: 090427/1
---	---------------------------	-------------------------------

Дата на ревизия: 2009-04-27

Przed zastosowaniem należy przeczytać cały protokół.

FSH-IRMA

I. PRZEZNACZENIE

Oznaczenie immunoradiometryczne do ilościowego pomiaru ludzkiego hormonu folikulostymulującego (Follicle Stimulating Hormone (FSH)) w surowicy i osoczu metodą *in vitro*.

II. INFORMACJE OGÓLNE

- A. Nazwa firmowa:** DIAsource FSH-IRMA Kit
- B. Numer katalogowy:** KIP0841: 96 oznaczeń
KIP0844: 4 x 96 oznaczeń
- C. Wyprodukowano przez:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgia.

Dział pomocy technicznej oraz informacje dotyczące zamówień:

Tel: +32 (0)67 88.99.99

Fax: +32 (0)67 88.99.96

III. INFORMACJE KLINICZNE

Pomiar stężeń LH i FSH w surowicy jest podstawowym badaniem w diagnostyce niepłodności a zwłaszcza zaburzeń osi podwzgórzowo/przysadkowo/gonadalnej.

Zarówno LH, jak i FSH są wydzielane przez komórki zasadochłonne przysadki, w wyniku sekrecji hormonu gonadoliberyny (GnRH) w podwzgórzu.

U dorosłych, hormony LH i FSH kontrolują funkcje gonad, a zwłaszcza gametogenezę i wydzielanie sterydów. Poziomy FSH we krwi krążącej są kontrolowane przez ujemne sprzężenie zwrotne działające na podwzgórze, poprzez hormony sterydowe i peptydy gonadalne.

IV. ZAGADNIENIA DOTYCZĄCE METODY

Oznaczenie DIASource FSH-IRMA jest metodą immunoradiometryczną, opartą na separacji w opłaszczonych probówkach. Mabs 1 – przeciwciała przechwytyjące – są umocowane do dolnej i wewnętrznej powierzchni plastikowej probówki. Kalibratory lub próbki, dodawane do probówek, będą na początku wykazywały niskie powinowactwo do Mabs1. Dodanie Mab2, przeciwciała sygnałowego oznakowanego ¹²⁵I zakończy etap i wyzwoi reakcję immunologiczną. Po przepłukaniu, stopień radioaktywności związanej z probówką odzwierciedla stężenie antygenu. Wykorzystywanie różnych Mabs pozwala na uniknięcie nadmiernej czułości.

V. DOSTARCZONE ODCZYNNIKI

Odczynniki	Ilość 96 oznaczeń	Ilość 4 x 96 oznaczeń	Kolor	Rekonstrukcja			
 Probówki opłaszczone przeciwciałami anti-FSH (przeciwciała monoklonalne)	2 x 48	8 x 48	czerwony	Gotowe do zastosowania			
<table><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> Przeciwciała (monoklonalne) anti-FSH oznakowane Jodem ¹²⁵ w buforze borowo-fosforanowym zawierającym bydlęcą albuminę surowiczą, azydek (0,1%) i czerwony barwnik	Ab	¹²⁵ I	1 fiolka 5,5 ml 700 kBq	4 fiolek 5,5 ml 4 x 700 kBq	czerwony	Gotowe do zastosowania	
Ab	¹²⁵ I						
<table><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Kalibratory 0 w surowicy bydlęcej z tymolem.	CAL	0	1 fiolka liofil.	2 fiolek liofil.	żółty	Dodać 2 ml wody destylowanej	
CAL	0						
<table><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibratory 1 - 6 w surowicy bydlęcej z tymolem (dokładne wartości na etykietach fiolek)	CAL	N	6 fiolek liofil.	12 fiolek liofil.	żółty	Dodać 1 ml wody destylowanej	
CAL	N						
<table><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Roztwór płuczący (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 fiolka 10 ml	4 fiolek 10 ml	brązowy	Rozcieńczyć 70x wodą destylowaną (wykorzystać mieszadło magnetyczne).
WASH	SOLN	CONC					
<table><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Kontrola 1 i 2 w surowicy pochodzenia ludzkiego z tymolem	CONTROL	N	2 fiolek liofil.	4 fiolek liofil.	srebrny	Dodać 0,5 ml wody destylowanej	
CONTROL	N						

Uwaga: 1. Do rozcieńczania próbek należy użyć kalibratora zerowego.
2. 1 mIU kalibratora jest równoważne 1 mIU z ¹²⁵I 92/510.

VI. MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE

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

- 1. Woda destylowana
- 2. Pipety do dostarczania objętości: 50 µl, 100 µl, 500µl, 1 ml i 2 ml. (zaleca się stosowanie właściwych pipet z jednorazowymi końcówkami plastikowymi)
- 3. Mieszadło wirowe
- 4. Mieszadło magnetyczne
- 5. Wytrząsarka probówek
- 6. Strzykawka automatyczna o objętości 5 ml (rodzaj Cornwall) do płukania
- 7. Układ do aspiracji (opcjonalnie)
- 8. Może być wykorzystywany jakikolwiek licznik gamma odpowiedni do pomiaru ¹²⁵I (minimalny uzysk 70%).

VII. PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

- A. **Kalibratory:** Rekonstruować kalibrator 0 przy pomocy 2 ml wody destylowanej a inne kalibratory przy pomocy 1 ml.
- B. **Kontrola:** Kontrola należy rekonstruować przy pomocy 0,5 ml wody destylowanej.
- C. **Roboczy roztwór płuczający:** Właściwą objętość roboczego roztworu płuczającego należy przygotować dodając 69 objętości wody destylowanej do 1 objętości roztworu płuczającego (70x). Do homogenizacji należy wykorzystać mieszadło magnetyczne. Niewykorzystany roboczy roztwór płuczający należy wylać pod koniec dnia.

VIII. PRZECHOWYWANIE I DATA WAŻNOŚCI ODCZYNNIKÓW

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

IX. POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE MATERIAŁU DO BADANIA

- Surowica i osocze muszą być przechowywane w temperaturze 2-8°C.
- Jeżeli oznaczenie nie jest wykonywane w ciągu 24 godzin, zaleca się przechowywanie w niewielkich ilościach w temperaturze -20°C.
- Unikać powtarzanych cykli zamrażania i rozmrażania.
- Surowica i osocze heparinizowane, bądź zawierające EDTA, pozwalają na uzyskanie podobnych wyników.
 $Y(\text{surowica}) = 1,00 \times (\text{osocze hep.}) + 0,3 \quad r = 0,99 \quad n = 39$
 $Y(\text{surowica}) = 1,02 \times (\text{osocze z EDTA}) + 0,3 \quad r = 0,99 \quad n = 39$

X. PROCEDURA

- A. **Uwagi dotyczące obsługi**
Nie wolno wykorzystywać składników zestawu po upływie daty ważności. Nie wolno mieszać materiałów pochodzących z różnych serii zestawów. Przed wykorzystaniem wszystkie odczynniki powinny osiągnąć temperaturę pokojową.
Wszystkie odczynniki i próbki należy dokładnie wymieszać przez delikatne potrząsanie lub obracanie. Aby uniknąć zanieczyszczenia krzyżowego do dodawania poszczególnych odczynników i próbek należy wykorzystywać czyste, jednorazowe końcówki pipet.
Pipety wysokiej precyzji lub pipety automatyczne poprawiają precyzję wykonania oznaczenia. Przestrzegać czasów inkubacji.
Przygotować krzywą kalibracyjną dla każdego cyklu pomiarowego, nie wolno wykorzystywać danych z poprzednich oznaczeń.
- B. **Procedura**
 1. Dla każdego kalibratora, próbki i kontroli należy oznaczyć opłaszczoną probówkę w badaniach podwójnych. W celu określenia całkowitych zliczeń należy oznaczyć 2 zwykłe probówki.
 2. Szybko wymieszać wirując: kalibratory, próbki i kontrole, i dozować po 100 µl każdej substancji do odpowiednich probówek.
 3. Dodać 50 µl anti-FSH-¹²⁵I (znacznik izotopowy) do wszystkich probówek w tym do nieopłaszczonych probówek do całkowitego zliczania.
 4. Delikatnie potrząsać (ręcznie) stojak z probówkami, aby uwolnić wszelkie, uwięzione pęcherzyki powietrza.
 5. Inkubować przez 60 minut w temperaturze pokojowej na mieszadle wirowym (700 obrotów/min).
 6. Aspirować (lub odlać) zawartość każdej probówki (z wyjątkiem probówek do całkowitego zliczania). Aby usunąć cały płyn należy upewnić się, że plastikowa końcówka aspiratora osiągnęła dno opłaszczonej probówki.
 7. Przepłukać probówki przy pomocy 2 ml roboczego roztworu płuczającego (z wyjątkiem probówek do całkowitego zliczania). W trakcie dodawania roboczego roztworu płuczającego należy unikać wytwarzania piany.
 8. Aspirować (lub odlać) zawartość każdej probówki (z wyjątkiem probówek do całkowitego zliczania).
 9. Ponownie przepłukać probówki przy pomocy 2 ml roztworu płuczającego (z wyjątkiem probówek do całkowitego zliczania) i aspirować (lub odlać).
 10. Po ostatnim płukaniu, pozostawić probówki w pozycji stojącej do góry na dwie minuty i aspirować pozostałe krople płynu.
 11. Zliczać probówki w liczniku gamma przez 60 sekund.

XI. OBLICZANIE WYNIKÓW

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

XII. PRZYKŁAD DANYCH TYPOWYCH

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

FSH-IRMA		cpm	B/T (%)
Zliczanie całkowite		362200	100
Kalibrator	0,0 mIU/ml	119	0,03
	0,7 mIU/ml	1265	0,35
	3,5 mIU/ml	2783	0,77
	10,4 mIU/ml	8400	2,32
	30,0 mIU/ml	28008	7,73
	100,0 mIU/ml	102364	28,26
	152,0 mIU/ml	160536	44,32

XIII. DZIAŁANIE I OGRANICZENIA

- A. Granica wykrywania**
Dwadzieścia kalibratorów zerowych oznaczano wraz z zestawem innych kalibratorów. Granica wykrywania, zdefiniowana jako odmierne stężenie dwóch odchyłeń standardowych powyżej przeciętnej wartości zliczania przy wiązaniu zerowym kształtowała się na poziomie 0,1 mIU/ml.
- B. Swoistość**
Hormony reagujące krzyżowo były dodane do kalibratora niskich i wysokich poziomów FSH. Oznaczano przybliżoną odpowiedź FSH.

Dodany hormon	FSH CAL 1 mIU/ml	FSH CAL 5 mIU/ml
-	0,65	100
LH 300 mIU/ml	1,31	99,16
hCG 300000 mIU/ml	1,46	100,31
TSH 300 µIU/ml	0,98	98,31

C. Precyzja

W SERII				POMIĘDZY SERIAMI			
Surowica	N	X ± S.D. (mIU/ml)	CV %	Surowica	N	X ± S.D. (mIU/ml)	CV %
A	10	4,0 ± 0,1	1,8	A	20	15,0 ± 3,0	4,4
B	10	9,0 ± 0,2	2,0	B	20	41,9 ± 1,0	2,4
C	10	50,7 ± 0,5	1,1				

SD Odchylenie standardowe; CV: Współczynnik zmienności

D. Dokładność

BADANIE ODZYSKU			
Próbka	FSH dodana (mIU/ml)	FSH odzyskany (mIU/ml)	Odzysk (%)
Surowica	6,4	6,2	97
	25,1	23,6	94
	88,8	86,1	97
Osocze z heparyną	6,4	7	109
	25,1	25,1	100
	88,8	96	108
Osocze z EDTA	6,4	7,3	114
	25,1	23,6	94
	88,8	84,1	95

BADANIE ROZCIEŃCZENIA			
Próbka	Rozcieńczenie	Stęż. teoretyczne (mIU/ml)	Stęż. zmierzone (mIU/ml)
Surowica 1	1/1	-	8,6
	1/2	4,3	4,1
	1/4	2,2	2
	1/8	1,1	1,1
	1/16	0,5	0,5
Surowica 2	1/1	-	59,6
	1/2	29,8	31,3
	1/4	14,9	16,5
	1/8	7,5	8,2
	1/16	3,7	4,0
	1/32	1,9	2,0
	1/64	0,9	1,0

Próbki zostały rozcieńczone przy pomocy kalibrator zerowy

- E. Opóźnienie pomiędzy oznaczeniem ostatniego kalibratora i dozowaniem próbki**
Jak wykazano, wyniki pomiaru pozostają dokładne nawet wówczas, gdy od momentu dodania kalibratora do oplatczonych próbek minęło 45 minut.

OPÓŹNIENIE				
	0'	15'	30'	45'
Surowica 1 (mIU/ml)	1,9	1,7	1,8	1,7
Surowica 2 (mIU/ml)	4,2	4,3	4,2	4,2
Surowica 3 (mIU/ml)	9,6	9,5	9,3	9,3
Surowica 4 (mIU/ml)	52,0	52,0	52,0	53,0

- F. Efekt hook'a**
Próbka nasyciona FSH o stężeniu do 1000 mIU/ml daje wyższe wartości zliczeń niż ostatni punkt kalibracyjny.

XIV. WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI

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

XV. ZAKRESY REFERENCYJNE

Wartości przedstawione poniżej mają wyłącznie cel orientacyjny; każde laboratorium powinno opracować własne zakresy norm. Zakres jest wyrażony jako 2,5 – 97,5% percentyla.

Identyfikacja	Liczba osobników	Średnia (mIU/ml)	Zakres (mIU/ml)
Dzieci (0 – 12 lat)			
§ Chłopcy	20	0,9	0,1 – 2,3
§ Dziewczeta	20	2,7	0,4 – 12,7
Okres dojrzewania (12 – 18 lat)	18	4,5	0,3 – 9,0
Dorośli mężczyźni	69	4,2	1,3 – 8,1
Kobiety			
§ Cykle jajnikowe			
- Faza folikularna (od -12 do -6 dnia)	34	6,1	1,8 – 9,4
- Szczyt owulacyjny (dzień 0)	48	11,9	3,4 – 33,1
- Faza lutealna (od +6 do +12 dnia)	63	4,3	1,2 – 13,4
§ Okres pomenopauzalny	53	64,7	27,7 – 93,3

XVI. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

Bezpieczeństwo
Tylko do diagnostyki *in vitro*.
Zestaw zawiera ¹²⁵I (Okres połowicznego rozpadu: 60 dni), emitujący promieniowanie jonizujące X (28 keV) i γ (35,5 keV).
Ten produkt radioaktywny może być transportowany i wykorzystany wyłącznie przez osoby autoryzowane; zakup, przechowywanie, stosowanie i wymiana

produktów radioaktywnych podlega regulacjom prawnym kraju użytkownika końcowego. W żadnym wypadku produkt nie może być podawany ludziom lub zwierzętom.

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

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

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

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

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

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

XVII. BIBLIOGRAFIA

1. CLARKE J.J., CUMMINS J.T. (1987)
Pulsatility of reproductive hormones: physiological basis and clinical implications.
Baillière's Clin. Endocrinol. Metab., 1:1

2. FILICORI M., SANTORO N., MERRIAN G.R., CROWLEY W.F. Jr., (1986)
Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 62:1136

3. MAIS V., CETEL N.S., MUSE K.N., QUIGLEY M.E., REID R.L., YEN S.S.C. (1987)
Hormonal dynamics during luteal-follicular transition.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 64:1109

4. SAWYER-STEFFAN J.E., LASLEY B.L., HOFF J.D., YEN S.S.C. (1982)
Comparison of in-vitro bioactivity and immunoreactivity of serum LH in normal cyclic and hypogonadal women treated with low doses of LH-RH.
J. Reprod. Fertil., 65:45

5. THOMAS C.M.G., SEGERS M.F.G. (1988)
Measurement of Serum hLH: hCG interference evaluated for two hLH-Specific IRMA kits.
Clin. Chem., 34:768

6. LOUMAYE E., VANKRIEKEN L., DEPREESTER S., PSALTI I., de COOMAN S., THOMAS K. (1989)
Hormonal changes induced by short-term administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization and their consequences for embryo development.
Fertil. and Steril., 51:105

7. VERMES I., BONTE H.A., SLUIS VEER G., SCHOEMAKER J. (1991)
Interpretations of five monoclonal immunoassays of Lutropin and Follitropin: effects of normalization with WHO standard.
Clin. Chem., 37:415

8. DEMOULIN A., DUBOIS M., GERDAY C., GILLAIN D., LAMBOTTE R., FRANCHIMONT P. (1991)
Variation of luteinizing hormone serum concentration after exogeneous human chorionic gonadotropin administration during ovarian stimulation.

Fertil. and Steril., 55:796

9. MASSA G., de ZECHER F., VANDERSCHUREN-LODEWYK K. (1992)
Serum levels of immunoreactive Inhibine, FSH and LH in human infants at Preterm and Term Birth.
Biol. of the Neonat., 61:150

10. DE HERTOGH R., VANKRIEKEN L., THOMAS K. de GASPARO M. (1992)
Circhoral fluctuations of serum total renin, inhibin and related hormones around the mid-cycle in normal human females.
Hum. Reprod., 7:337

XVIII. PODSUMOWANIE PROTOKOŁU

	CAŁKOWITA LICZBA ZLICZEŃ ml	KALIBRATORY ml	PRÓBK(A)I KONTROLE ml
Kalibratory (0-6) Próbki, kontrole Znacznik izotopowy	- - 0,05	0,1 - 0,05	- 0,1 0,05
Inkubacja	60 minut w temperaturze pokojowej z wytrząsaniem 700 rpm		
Rozdzielenie Roztwór płuczający Rozdzielenie Roztwór płuczający Rozdzielenie	- - - - -	aspiracja (lub odlewanie) 2,0 aspiracja (lub odlewanie) 2,0 aspiracja (lub odlewanie)	
Zliczanie	Zliczanie próbek przez 60 sekund		

Nr katalogowy DIASource KIP0841 – KIP0844	Numer P.I. 1700516/pl	Nr aktualizacji : 090427/1
--	--------------------------	-------------------------------

Data wydania : 2009-04-27

	<u>Used symbols</u>	<u>Symboles utilisés</u>
	Consult instructions for use	Consulter les instructions d'utilisation
	Storage temperature	Température de conservation
	Use by	Utiliser jusque
	Batch code	Numéro de lot
	Catalogue number	Référence de catalogue
	Control	Contrôle
	In vitro diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Manufacturer	Fabricant
	Contains sufficient for <n> tests	Contenu suffisant pour <n> tests
	Wash solution concentrated	Solution de lavage concentrée
	Zero calibrator	Calibrateur zéro
	Calibrator #	Calibrateur #
	Control #	Contrôle #
	Tracer	Traceur
	Tracer	Traceur
	Tracer concentrated	Traceur concentré
	Tracer concentrated	Traceur concentré
	Tubes	Tubes
	Incubation buffer	Tampon d'incubation
	Acetonitrile	Acétonitrile
	Serum	Sérum
	Specimen diluent	Diluant du spécimen
	Dilution buffer	Tampon de dilution
	Antiserum	Antisérum
	Immunoabsorbent	Immunoabsorbant
	Calibrator diluent	Diluant de calibrateur
	Reconstitution solution	Solution de reconstitution
	Polyethylene glycol	Glycol Polyéthylène
	Extraction solution	Solution d'extraction
	Elution solution	Solution d'élution
	Bond Elut Silica cartridges	Cartouches Bond Elut Silica
	Pre-treatment solution	Solution de pré-traitement
	Neutralization solution	Solution de neutralisation
	Tracer buffer	Tampon traceur
	Microtiterplate	Microplaque de titration
	HRP Conjugate	HRP Conjugué
	HRP Conjugate	HRP Conjugué
	HRP Conjugate concentrate	HRP Conjugué concentré
	HRP Conjugate concentrate	HRP Conjugué concentré
	Conjugate buffer	Tampon conjugué
	Chromogenic TMB concentrate	Chromogène TMB concentré
	Chromogenic TMB solution	Solution chromogène TMB
	Substrate buffer	Tampon substrat
	Stop solution	Solution d'arrêt
	Incubation serum	Sérum d'incubation
	Buffer	Tampon
	AP Conjugate	AP Conjugué
	Substrate PNPP	Tampon PNPP
	Biotin conjugate concentrate	Biotine conjugué concentré
	Avidine HRP concentrate	Avidine HRP concentré
	Assay buffer	Tampon de test
	Biotin conjugate	Biotine conjugué
	Specific Antibody	Anticorps spécifique
	Streptavidin HRP concentrate	Concentré streptavidine HRP
	Non-specific binding	Liant non spécifique
	2nd Antibody	Second anticorps
	Acidification Buffer	Tampon d'acidification

	<u>Gebruikte symbolen</u>	<u>Gebrauchte Symbolen</u>
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Gebrauchsanweisung beachten
	Bewaartemperatuur	Lagern bei
	Houdbaar tot	Verwendbar bis
	Lotnummer	Chargenbezeichnung
	Catalogusnummer	Bestellnummer
	Controle	Kontrolle
	Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek	In Vitro Diagnostikum
	Fabrikant	Hersteller
	Inhoud voldoende voor <n> testen	Ausreichend für <n> Ansätze
	Wasoplossing, geconcentreerd	Waschlösung-Konzentrat
	Nulkalibrator	Null kalibrator
	Kalibrator #	Kalibrator #
	Controle #	Kontrolle #
	Tracer	Tracer
	Tracer	Tracer
	Tracer geconcentreerd	Tracer Konzentrat
	Tracer geconcentreerd	Tracer Konzentrat
	Buisjes	Röhrchen
	Incubatiebuffer	Inkubationspuffer
	Acetonitrile	Azetonitril
	Serum	Humanserum
	Specimen diluent	Probenverdünner
	Verdunningsbuffer	Verdünnungspuffer
	Antiserum	Antiserum
	Immunoabsorbent	Immunadsorbens
	Kalibratorverdunner	Kalibratorverdünnung
	Reconstitutieoplossing	Rekonstitutionslösung
	Polyethyleen glycol	Polyethylenglykol
	Extractieoplossing	Extraktionslösung
	Elutieoplossing	Eluierungslösung
	Bond Elut Silica kolom	Bond Elut Silikakartuschen
	Pre-behandelingsoplossing	Vorbehandlungslösung
	Neutralisatieoplossing	Neutralisierungslösung
	Tracerbuffer	Tracer-Puffer
	Microtiterplaat	Mikrotiterplatte
	HRP Conjugaat	HRP Konjugat
	HRP Conjugaat	HRP Konjugat
	HRP Conjugaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	HRP Conjugaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	Conjugaat buffer	Konjugatpuffer
	Chromogene TMB geconcentreerd	Chromogenes TMB Konzentrat
	Chromogene Oplossing TMB	Farblösung TMB
	Substraatbuffer	Substratpuffer
	Stopoplossing	Stopplösung
	Incubatieserum	Inkubationsserum
	Buffer	Puffer
	AP Conjugaat	AP Konjugat
	Substraat PNPP	Substrat PNPP
	Geconcentreerd Biotine conjugaat	Biotin-Konjugat-Konzentrat
	Geconcentreerd Avidine-HRP conjugaat	Avidin-HRP-Konzentrat
	Assay buffer	Assaypuffer
	Biotine conjugaat	Biotin-Konjugat
	Specifiek antilichaam	Spezifischer Antikörper
	Streptavidine-HRP concentraat	HRP Streptavidinkonzentrat
	Aspecifieke binding	Unspezifische Bindung
	2de antilichaam	Sekundärer Antikörper
	Verzuringbuffer	Ansäuerungspuffer

	<u>Simboli utilizzati</u>	<u>Símbolos utilizados</u>
	Consultare le istruzioni per l'uso	Consultar las instrucciones de uso
	Limitazioni di temperatura	Limitación de temperatura
	Utilizzare entro	Fecha de caducidad
	Numero di lotto	Código de lote
	Numero di catalogo	Número de catálogo
	Controllo	Control
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Fabbricante	Fabricante
	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Tampone di lavaggio concentrato	Solución de lavado concentrada
	Calibratore zero	Calibrador cero
	Standard #	Calibrador #
	Controllo #	Control #
	Marcato	Trazador
	Marcato	Trazador
	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Marcato concentrato	Trazador concentrada
	Provette	Tubos
	Tampone incubazione	Tampón de incubación
	Acetonitrile	Acetonitrilo
	Siero	Suero
	Diluente campione	Diluyente de Muestra
	Tampone diluizione	Tampón de dilución
	Antisiero	Antisuero
	Immunoassorbente	Inmunoadsorbente
	Diluente calibratore	Diluyente de calibrador
	Soluzione di ricostituzione	Solución de Reconstitución
	Polietilenglicole	Glicol Polietileno
	Soluzione di estrazione	Solución de extracción
	Soluzione di eluizione	Solución de elución
	Cartucce di silice bond elut	Cartuchos Bond Elut Silica
	Soluzione di pretrattamento	Solución de Pre-tratamiento
	Soluzione di neutralizzazione	Solución de Neutralización
	Tracer Buffer	Tampón de trazador
	Piastra di microtitolazione	Placa de microvaloración
	HRP Coniugato	HRP Conjugado
	HRP Coniugato	HRP Conjugado
	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
	HRP Coniugato concentrato	HRP Conjugado concentrada
	Buffer coniugato	Tampón de Conjugado
	Cromogena TMB concentrato	Cromógena TMB concentrada
	Soluzione cromogena TMB	Solución Cromógena TMB
	Tampone substrato	Tampón de sustrato
	Soluzione di arresto	Solución de Parada
	Incubazione con siero	Suero de Incubación
	Buffer	Tampón
	AP Coniugato	AP Conjugado
	Substrato PNPP	Sustrato PNPP
	Concentrato coniugato con biotina	Concentrado de conjugado de biotina
	Concentrato avidina HRP	Concentrado avidina-HRP
	Soluzione tampone per test	Tampón de ensayo
	Coniugato con biotina	Conjugado de biotina
	Anticorpo Specifico	Anticuerpo específico
	Streptavidina-HRP concentrata	Estreptavidina-HRP Concentrado
	Legame non-specifico	Unión no específica
	2° Anticorpo	Segundo anticuerpo
	Tampone Acidificante	Tampón de Acidificación

	<u>Símbolos utilizados</u>	<u>Använda symboler</u>
	Consulte instruções de utilização	Läs instruktionerna före användning
	Temperatura de conservação	Förvaringstemperatur
	Utilizar antes de	Används av
	Código de lote	Lotnummer
	Número de catálogo	Katalognummer
	Controlo	Kontroll
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro	In vitro diagnostiskt kit
	Fabricante	Tillverkare
	Conteúdo suficiente para <n> testes	Innehållet räcker till <n> prover
	Solução de lavagem concentrada	Tvättlösning, koncentrerad
	Calibrador zero	Nollkalibrerare
	Calibrador #	Kalibrator #
	Controlo #	Kontroll #
	Marcador	Radioisotop, antigen
	Marcador	Radioisotop, antikropp
	Marcador concentrada	Radioisotop, antigen koncentrerad
	Marcador concentrada	Radioisotop, antikropp koncentrerad
	Tubos	Rör
	Tampão de incubação	Inkuberingsbuffert
	Acetonitrilo	Acetonitril
	Soro	Serum
	Diluidor de espécimes	Spädningsbuffert för prover
	Tampão de diluição	Spädningsbuffert
	Anti-soro	Antiserum
	Imunoadsorvente	Immunoadsorberare
	Diluyente do calibrador	Kalibratordiluent
	Solução de Reconstituição	Rekonstitutionslösning
	Polietileno-glicol	Polyetylglykol
	Solução de Extracção	Extraktionslösning
	Solução de Eluição	Elueringslösning
	Cartuchos de sílica Bond Elut	Silikonpatroner för elueringsbindning
	Solução de pré-tratamento	Förbehandlingslösning
	Solução de neutralização	Neutraliseringslösning
	Tampão Marcador	Tracerbuffert
	Placa de micro titulação	Microtiterplatta
	HRP Conjugação	HRP-konjugat
	HRP Conjugação	HRP-konjugat
	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
	HRP Conjugação concentrada	HRP-konjugat-koncentrat
	Conjuge o tampão	Konjugatbuffert
	Cromogénica TMB concentrada	Kromogeniskt TMB-koncentrat
	Solução Cromogénica TMB	Kromogenisk TMB-lösning
	Tampão de substrato	Substratbuffert
	Solução de Paragem	Stoplösning
	Soro de incubação	Inkubationsserum
	Tampão	Buffert
	AP Conjugação	AP-konjugat
	Substrato PNPP	Substrat-PNPP
	Concentrado conjugado de biotina	Biotinkonjugat koncentrat
	Concentrado HRP de avidina	Avidin HRP-koncentrat
	Tampão de ensaio	Provbuffert
	Conjugado de biotina	Biotinkonjugat
	Anticorpo específico	-
	Estreptavidina HRP concentrado	-
	Ligações não específicas	-
	Anticorpo secundário	-
	Tampão de acidificação	-

	<u>Επεξήγηση συμβόλων</u>	<u>Anvendte symboler</u>
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	Læs brugsvejledningen
	Θερμοκρασία αποθήκευσης	Opbevaringstemperatur
	Ημερομηνία λήξης	Anvend inden
	Αριθμός παρτίδας	Batchkode
	Αριθμός καταλόγου	Katalognummer
	Πρότυπο ελέγχου	Kontrol
	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnosticering
	Κατασκευαστής	Fabrikant
	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις	Indeholder nok til <n> test
	Συμπυκνωμένο διάλυμα έκπλυσης	Koncentreret vaskeopløsning
	Μηδενικός βαθμονομητής	Nul-kalibrator
	Βαθμονομητής #	Kalibrator nr.
	Ορός ελέγχου #	Kontrol nr.
	Ιχνηθέτης	Markør
	Ιχνηθέτης	Markør
	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης	Koncentreret markør
	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης	Koncentreret markør
	Σοληνάρια	Tuber
	Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης	Inkubationsbuffer
	Ακετονιτρίλιο	Acetonitril
	Ορός	Serum
	Διάλυμα αραίωσης δειγμάτων	Prøvediluent
	Ρυθμιστικό διάλυμα αραίωσης	Fortyndingsbuffer
	Αντιορός	Antiserum
	Ανοσοπροσροφητικό	Immonoadsorbent
	Αραιωτικό βαθμονομητών	Kalibratordiluent
	Διάλυμα ανασύστασης	Rekonstitueringsopløsning
	Πολυαιθυλενογλυκόλη	Polyetylglykol
	Διάλυμα εκχύλισης	Ekstraktionsopløsning
	Διάλυμα έκλουσης	Elueringsopløsning
	Φύσιγγες πυριτίου Bond Elut	Patroner med bindingselueringssilica
	Διάλυμα προεπεξεργασίας	Forbehandlingsopløsning
	Διάλυμα εξουδετέρωσης	Neutraliseringsopløsning
	Ρυθμιστικό διάλυμα	Markørbuffer
	Πλάκα μικροτιτλοδότησης	Mikrotiterplade
	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
	HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat
	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα	HRP-konjugat-koncentreret
	Ρυθμιστικό διάλυμα συζεύγματος	Konjugatbuffer
	Χρωμογόνος TMB	Kromogen TMB-koncentreret
	Διάλυμα χρωμογόνου TMB	Kromogen TMB-opløsning
	Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος	Substratbuffer
	Ανασχετικό αντιδραστήριο	Stopopløsning
	Ορός επώασης	Inkubationsserum
	Ρυθμιστικό διάλυμα	Buffer
	AP Σύζευγμα	AP-konjugat
	PNPP υποστρώματος	Substrat PNPP
	Συμπυκνωμένο αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat koncentrat
	Συμπυκνωμένο διάλυμα αβιδίνης-HRP	Avidin HRP koncentrat
	Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού	Prøvebuffer
	αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη	Biotin konjugat
	Ειδικό Αντίσωμα	-
	Συμπυκνωμένη στρεπταβιδίνη συνεξευγμένη με HRP	-
	μη-ειδική δέσμευση	-
	2ο Αντίσωμα	-
	Ρυθμιστικό Διάλυμα όξινο	-

	<u>Stosowane symbole</u>	<u>Használt szimbólumok</u>
	Przed zastosowaniem zapoznać się z instrukcją	Olvassa el a használati útmutatót
	Temperatura przechowywania	Tárolási hőmérséklet
	Zużyć przed	Lejáratí idő
	Kod serii	Gyártási kód
	Numer katalogowy	Katalógus szám
	Kontrola	Kontrol
	Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro	In vitro diagnosztikai eszköz
	Producent	Gyártó
	Zawartość wystarczająca do <n> testów	Tartalma <n> teszt elvégzésére elegendő
	Roztwór płuczący stężony	Mosó folyadék koncentrátum
	Kalibrator zerowy	Zero kalibrátor
	Kalibrator nr	Kalibrátor #
	Kontrola nr	Kontrol #
	Znacznik izotopowy	Nyomjelző izotóp
	Znacznik izotopowy	Nyomjelző izotóp
	Znacznik izotopowy stężony	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Znacznik izotopowy stężony	Nyomjelző izotóp koncentrátum
	Probówki	Csővek
	Wymagana inkubacja buforu	Inkubáló puffer
	Acetonitryl	Acetonitril
	Surowica	Szérum
	Rozcieńczalnik próbki	Mintahígító
	Bufor do rozcieńczania	Hígító puffer
	Antysurowica	Antiszérum
	Immunoabsorbent	Immunadszorbens
	Rozcieńczalnik kalibratora	Kalibrátor hígító
	Roztwór do rozcieńczania	Mintaelőkészítő oldat
	Glikol poli(oksy)etylenowy	Polietilén glikol
	Roztwór ekstrakcyjny	Extrakciós oldat
	Roztwór elucyjny	Eluáló oldat
	Kolumny krzemionkowe Bond Elut	Bond Elut Silica szilikagél patronok
	Roztwór do przygotowania wstępnego	Előkezelő oldat
	Roztwór neutralizujący	Semlegesítő oldat
	Bufor znacznika	Nyomjelző izotóp hígító puffer
	mikropłytki	Mikrotiter lemez
	Koniugat peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum
	Koniugat peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum
	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum koncentrátum
	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej	HRP konjugátum koncentrátum
	Bufor do koniugacji	Konjugátum puffer
	Koncentrat chromogenu TMB (czterometylobenzodyny)	Kromogén TMB koncentrátum
	Roztwór chromogenu TMB (czterometylobenzodyny)	Kromogén TMB oldat
	Bufor substratu	Szubsztrát puffer
	Roztwór zatrzymujący reakcję	Stop oldat
	Wymagana inkubacja surowicy	Inkubációs szérum
	Bufor	Puffer
	Koniugat AP (fosfatazy alkalicznej)	AP konjugátum
	p-nitrofenylofosforan substratowy	Szubsztrát PNPP
	Koncentrat koniugatu biotyny	Biotin konjugátum koncentrátum
	Koncentrat peroksydazy chrzanowej z awidyną	Avidin HRP koncentrátum
	Bufor do oznaczania	Vizsgálati puffer
	Koniugatu biotyny	Biotin konjugátum
	Przeciwciało swoiste	Specifikus ellenanyag
	Koncentrat streptawidyny HRP	Sztreptawidin HRP koncentrátum
	Wiązanie nieswoiste	Nem-specifikus kötődés
	Drugie przeciwciało	Másodlagos ellenanyag
	Bufor zakwaszający	Savas puffer

	<u>Използвани символи</u>					
	Вижте инструкцията за работа					
	Температура на съхранение					
	Използвайте с					
	Партиден код					
	Каталожен номер					
	Контрол					
	Ин витро диагностично медицинско изделие					
	Производител					
	Съдържание достатъчно за <n> теста					
<table><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table>	WASH	SOLN	CONC	Концентриран измиващ разтвор		
WASH	SOLN	CONC				
<table><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table>	CAL	0	Нулев калибратор			
CAL	0					
<table><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table>	CAL	N	Калибратор #			
CAL	N					
<table><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table>	CONTROL	N	Контрол #			
CONTROL	N					
<table><tr><td>Ag</td><td>125I</td></tr></table>	Ag	125I	Трейсър			
Ag	125I					
<table><tr><td>Ab</td><td>125I</td></tr></table>	Ab	125I	Трейсър			
Ab	125I					
<table><tr><td>Ag</td><td>125I</td><td>CONC</td></tr></table>	Ag	125I	CONC	Концентриран маркер		
Ag	125I	CONC				
<table><tr><td>Ab</td><td>125I</td><td>CONC</td></tr></table>	Ab	125I	CONC	Концентриран маркер		
Ab	125I	CONC				
	Епруветки					
<table><tr><td>INC</td><td>BUF</td></tr></table>	INC	BUF	Инкубационен буфер			
INC	BUF					
<table><tr><td>ACETONITRILE</td></tr></table>	ACETONITRILE	Ацетонитрил				
ACETONITRILE						
<table><tr><td>SERUM</td></tr></table>	SERUM	Серум				
SERUM						
<table><tr><td>DIL</td><td>SPE</td></tr></table>	DIL	SPE	Разредител за пробите			
DIL	SPE					
<table><tr><td>DIL</td><td>BUF</td></tr></table>	DIL	BUF	Буфер за разреждане			
DIL	BUF					
<table><tr><td>ANTISERUM</td></tr></table>	ANTISERUM	Антисерум				
ANTISERUM						
<table><tr><td>IMMUNOABSORBENT</td></tr></table>	IMMUNOABSORBENT	Имуноабсорбент				
IMMUNOABSORBENT						
<table><tr><td>DIL</td><td>CAL</td></tr></table>	DIL	CAL	Разредител за калибратора			
DIL	CAL					
<table><tr><td>REC</td><td>SOLN</td></tr></table>	REC	SOLN	Пресъздаващ разтвор			
REC	SOLN					
<table><tr><td>PEG</td></tr></table>	PEG	Полиетилен гликол				
PEG						
<table><tr><td>EXTR</td><td>SOLN</td></tr></table>	EXTR	SOLN	Екстрактов разтвор			
EXTR	SOLN					
<table><tr><td>ELU</td><td>SOLN</td></tr></table>	ELU	SOLN	Разтвор за елюиране			
ELU	SOLN					
<table><tr><td>GEL</td></tr></table>	GEL	Силикагелни пълнители				
GEL						
<table><tr><td>PRE</td><td>SOLN</td></tr></table>	PRE	SOLN	Пред-лечебен разтвор			
PRE	SOLN					
<table><tr><td>NEUTR</td><td>SOLN</td></tr></table>	NEUTR	SOLN	Неутрализиращ ратвор			
NEUTR	SOLN					
<table><tr><td>TRACEUR</td><td>BUF</td></tr></table>	TRACEUR	BUF	Маркерен буфер			
TRACEUR	BUF					
	Микротитърна пластина					
<table><tr><td>Ab</td><td>HRP</td></tr></table>	Ab	HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза			
Ab	HRP					
<table><tr><td>Ag</td><td>HRP</td></tr></table>	Ag	HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза			
Ag	HRP					
<table><tr><td>Ab</td><td>HRP</td><td>CONC</td></tr></table>	Ab	HRP	CONC	HRP конюгиран концентрат		
Ab	HRP	CONC				
<table><tr><td>Ag</td><td>HRP</td><td>CONC</td></tr></table>	Ag	HRP	CONC	HRP конюгиран концентрат		
Ag	HRP	CONC				
<table><tr><td>CONJ</td><td>BUF</td></tr></table>	CONJ	BUF	Буфер за конюгата			
CONJ	BUF					
<table><tr><td>CHROM</td><td>TMB</td><td>CONC</td></tr></table>	CHROM	TMB	CONC	Хромогенен TMB концентрат		
CHROM	TMB	CONC				
<table><tr><td>CHROM</td><td>TMB</td></tr></table>	CHROM	TMB	Хромогенен TMB разтвор			
CHROM	TMB					
<table><tr><td>SUB</td><td>BUF</td></tr></table>	SUB	BUF	Субстратен буфер			
SUB	BUF					
<table><tr><td>STOP</td><td>SOLN</td></tr></table>	STOP	SOLN	Стоп разтвор			
STOP	SOLN					
<table><tr><td>INC</td><td>SER</td></tr></table>	INC	SER	Инкубационен серум			
INC	SER					
<table><tr><td>BUF</td></tr></table>	BUF	Буфер				
BUF						
<table><tr><td>Ab</td><td>AP</td></tr></table>	Ab	AP	AP конюгат / конюгат на алкална фосфатаза			
Ab	AP					
<table><tr><td>SUB</td><td>PNPP</td></tr></table>	SUB	PNPP	Субстрат PNPP / пара нитрофенил фосфат			
SUB	PNPP					
<table><tr><td>BIOT</td><td>CONJ</td><td>CONC</td></tr></table>	BIOT	CONJ	CONC	Биотин конюгиран концентрат		
BIOT	CONJ	CONC				
<table><tr><td>AVID</td><td>HRP</td><td>CONC</td></tr></table>	AVID	HRP	CONC	Авидин HRP концентрат		
AVID	HRP	CONC				
<table><tr><td>ASS</td><td>BUF</td></tr></table>	ASS	BUF	Буфер за пробите			
ASS	BUF					
<table><tr><td>Ab</td><td>BIOT</td></tr></table>	Ab	BIOT	Биотин конюгат			
Ab	BIOT					
<table><tr><td>Ab</td></tr></table>	Ab	специфично анти тяло				
Ab						
<table><tr><td>SAV</td><td>HRP</td><td>CONC</td></tr></table>	SAV	HRP	CONC	стрептавидин HRP концентрат		
SAV	HRP	CONC				
<table><tr><td>NSB</td></tr></table>	NSB	не специфично свързване				
NSB						
<table><tr><td>2nd Ab</td></tr></table>	2nd Ab	второ анти тяло				
2nd Ab						
<table><tr><td>ACID</td><td>BUF</td></tr></table>	ACID	BUF	киселинизиращ буфер			
ACID	BUF					