



hPL-RIA-CT

KIP1149

Read entire protocol before use.

hPL-RIA-CT

I. INTENDED USE

Radioimmunoassay for the *in vitro* quantitative measurement of human Placental Lactogen (hPL) in serum and plasma.

II. GENERAL INFORMATION

- A. **Proprietary name :** DIAsource hPL-RIA-CT Kit
- B. **Catalog number :** KIP1149 : 96 tests
- C. **Manufactured by :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

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

III. CLINICAL BACKGROUND

A. Placental Lactogen

Human Placental Lactogen Protein (hPL) is a dimer of two polypeptide chains of equivalent weight (19.000) with lactogenic, luteotropic and growth activities. hPL, which is produced by trophoblastic cells of the normal placenta or by trophoblastic tumor tissue, has an amino acid composition quite similar to that of hGH, and to a lesser extent to that of prolactin. hPL becomes detectable in serum from about 6th week of pregnancy : later on hPL levels in serum increase progressively throughout pregnancy to reach a plateau of 2-10 µg/ml by the 34th week reflecting directly the growth of the placental tissue. Because of its short plasma half-life (± 20 minutes), hPL becomes undetectable in the serum 4 hours after delivery.

B. Clinical application of hPL-RIA

- *Assessment of placental function during pregnancy*
hPL-RIA is one of the main biochemical techniques for monitoring placental function during the final trimester of pregnancy; measurement of hPL serum level is also used as a prognostic parameter when vaginal bleeding occurs during the first trimester of pregnancy.
- *Diagnostics of molar pregnancy and chorionic neoplasm*
Measurement of serum hPL levels is a useful adjunct in the diagnosis of molar pregnancy when used together with the measurement of hCG level (hCG/hPL ratio). High hCG levels in conjunction with low hPL value suggest molar pregnancy or a chorionic tumor.

IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

A fixed amount of ^{125}I labelled hPL competes with the hPL to be measured present in the sample or in the calibrator for a fixed amount of antibody sites being immobilized to the wall of a polystyrene tube. Neither extraction nor chromatography is required because of the high specificity of the coated antibodies. After 1 hour incubation at room temperature, an aspiration step terminates the competition reaction. The tubes are then washed with 2 ml of wash solution and aspirated again. A calibration curve is plotted and the hPL concentrations of the samples are determined by dose interpolation from the calibration curve.

V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	96 Test Kit	Colour Code	Reconstitution
 Tubes coated with anti hPL (monoclonal antibodies)	2 x 48	brown	Ready for use
Ag^{125I} TRACER: ^{125}I odine labelled hPL (HPLC grade) in phosphate buffer with bovine serum albumin, benzamidine and azide (<0.1%)	1 vial 10.5 ml 90 kBq	red	Ready for use
CAL 0 Zero Calibrator in phosphate buffer with bovine serum albumin and thymol	1 vial lyophilised	yellow	Add 2 ml distilled water
CAL N Calibrators - N = 1 to 5 (see exact values on vial labels) in phosphate buffer with bovine serum albumin and thymol	5 vials lyophilised	yellow	Add 0.5 ml distilled water
WASH SOLN CONC Wash solution (TRIS-HCl)	1 vial 10 ml	brown	Dilute 70 x with distilled water (use a magnetic stirrer).
CONTROL N Controls - N = 1 or 2 in human serum with thymol	2 vials lyophilised	silver	Add 0.5 ml distilled water

Note : Use the zero calibrator for sera dilutions.
1 µg of the calibrator preparation is equivalent to 1 µIU NIBSC IRP 73/545

VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

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

- Distilled water
- Pipettes for delivery of: 25 µl, 100 µl, 500 µl and 2 ml (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
- Vortex mixer
- Magnetic stirrer
- 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 0.5 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 kits components are stable until the expiry date, indicated on the label, if kept at 2 to 8°C.
- After reconstitution, calibrators and controls are stable for 7 days at 2-8°C. For longer storage periods, aliquots should be made and kept at -20°C for 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 or plasma samples must be kept at 2-8°C.
- If the test is not run within 24 hrs, storage at -20°C is recommended.
- Avoid subsequent freeze-thaw cycles.
- Serum or plasma (heparinized or EDTA) provide similar results.
Y (serum) = 1.03 x (EDTA plasma) - 0.0005 r = 0.98 n = 22
Y (serum) = 0.89x (heparin plasma) - 0.0135 r = 0.98 n = 21

X. PROCEDURE

A. Handling notes

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

B. Procedure

- Label coated-tubes in duplicate for each calibrator, control and sample. For the determination of total counts, label 2 normal tubes
- Briefly vortex calibrators, controls and samples and dispense 25 µl of each into the respective tubes.
- Dispense 100 µl of ^{125}I odine labelled hPL into each tube, including the uncoated tubes for total counts.
- Shake the tube rack gently by hand to liberate any trapped air bubbles.
- Incubate for 1 hour at room temperature.
- Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts). Be sure that the plastic tip of the aspirator reaches the bottom of the coated-tube in order to remove all the liquid.
- Wash tubes with 2 ml Working Wash solution (except total counts) and aspirate (or decant). Avoid foaming during the addition of the Working Wash solution.
- Let the tubes stand upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
- Count tubes in a gamma counter for 60 seconds.

XI. CALCULATION OF RESULTS

- Calculate the mean of duplicate determinations.
- Calculate the bound radioactivity as a percentage of the binding determined at the zero calibrator point (0) according to the following formula :

$$B/B_0(\%) = \frac{\text{Counts (Calibrator or sample)}}{\text{Counts (Zero Calibrator)}} \times 100$$

- Using a 3 cycle semi-logarithmic or logit-log graph paper, plot the (B/B₀(%)) values for each calibrator point as a function of the hPL concentration of each calibrator point. Reject obvious outliers.
- Computer assisted methods can also be used to construct the calibration curve. If automatic result processing is used, a 4-parameter logistic function curve fitting is recommended.
- By interpolation of the sample (B/B₀ (%)) values, determine the hPL concentrations of the samples from the calibration curve.
- For each assay, the percentage of total tracer bound in the absence of unlabelled hPL (B₀/T) must be checked.

XII. TYPICAL DATA

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

hPL		cpm	B/Bo (%)
Total count		27305	
Calibrator	0.0 µg/ml	13935	100.0
	0.35 µg/ml	11471	82.3
	0.73 µg/ml	9704	69.6
	1.35 µg/ml	7019	50.4
	3.8 µg/ml	3889	27.9
	11.8 µg/ml	1682	12.1

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 below the average counts at zero binding, was 0.1 µg/ml.
- B. Specificity

Hormone	No significant interference up to	
LH	40000	mIU/ml
FSH	60000	mIU/ml
TSH	200	mIU/ml
hCG	300000	mIU/ml
PRL	50000	ng/ml
hGH	2500	ng/ml

- C. Precision
- INTRA-ASSAY PRECISION

Serum	N	<X> ± SD (µg/ml)	CV (%)
A	10	1.65 ± 0.06	3.6
B	10	4.72 ± 0.09	2.0
- INTER-ASSAY PRECISION

Serum	N	<X> ± SD (µg/ml)	CV (%)
A	20	1.78 ± 0.10	5.7
B	20	4.83 ± 0.34	6.9

SD: Standard Deviation; CV: Coefficient of variation

- D. Accuracy
- DILUTION TEST

Sample	Dilution	Theoretical Concent. (µg/ml)	Measured Concent. (µg/ml)
A	1/1	-	9.9
	1/2	5.0	5.0
	1/4	2.5	2.9
	1/8	1.2	1.4
	1/16	0.6	0.6
	1/32	0.3	0.3
B	1/1	-	9.9
	1/2	5.0	6.0
	1/4	2.5	2.9
	1/8	1.2	1.4
	1/16	0.6	0.7
	1/32	0.3	0.3

Samples were diluted with zero calibrator.

RECOVERY TEST			
Sample	added hPL (µg/ml)	Recovered hPL (µg/ml)	Recovered (%)
1	0.6	0.6	101
	1.25	1.19	96
	2.5	2.67	107
	5	4.95	99
	10	8.56	86
2	1.25	1.19	95
	2.5	2.46	98
	5	4.72	94

- E. Time delay between last calibrator and sample dispensing
As shown hereafter, assay results remain accurate even when a sample is dispensed 60 minutes after the calibrator has been added to coated tubes.

TIME DELAY					
Serum µg/ml	0'	15'	30'	45'	60'
C 1	1.6	1.8	1.8	1.9	1.9
C 2	4.7	5	5.1	5.1	5.2

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

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

Pregnancy trimesters	N	Median (µg/ml)	Range (µg/ml)
1 st Trimester	23	0.7	0.4 – 2.3
2 nd Trimester	30	2.3	0.8 – 5.7
3 rd Trimester	29	5.7	1.1 – 9.5

The range is based on 2.5 % and 97.5 % percentiles

XVI. PRECAUTIONS AND WARNINGS

Safety
For *in vitro* diagnostic use only.
This kit contains ¹²⁵I (half-life: 60 days) ,emitting ionizing X (28 keV) and γ (35.5 keV) radiations.
This radioactive product can be transferred to and used only by authorized persons; purchase, storage, use and exchange of radioactive products are subject to the legislation of the end user's country. In no case the product must be administered to humans or animals.
All radioactive handling should be executed in a designated area, away from regular passage. A logbook for receipt and storage of radioactive materials must be kept in the lab. Laboratory equipment and glassware, which could be contaminated with radioactive substances, should be segregated to prevent cross contamination of different radioisotopes.
Any radioactive spills must be cleaned immediately in accordance with the radiation safety procedures. The radioactive waste must be disposed of following the local regulations and guidelines of the authorities holding jurisdiction over the laboratory. Adherence to the basic rules of radiation safety provides adequate protection.

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

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

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

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

XVII. BIBLIOGRAPHY

1. CHARD, T.
Placental lactogen : biology and clinical applications, In :
GRUNDINSKAS JG, TEISNER B, SEPPALA M. (1981)
Eds Pregnancy proteins: Biology, Chemistry, and clinical Applications
New York : Academic Press, 101-118.
2. CHOSIGNANI, P.G. and al. (1974)
Value of hCG and hCS measurements in clinical practice.
Obstetrics and Gynecology 44, 673-81.
3. GRANT, M. and al. (1977)
Further investigation on the predictive value of human placental lactogen in high risk pregnancies.
Am. J. Obstet. Gynecol. 129,647.
4. HARRIGAN, J.T. and al. (1976)
Predictive value of human placental lactogen determination in pregnancy.
Obstetrics and Gynecology, 47, 443-445.

5. ISQUARD, G. (1981)
A comparison of serum measurements of unconjugated oestriol, total oestriol, human placental lactogen and pregnancy-specific \$ glycoprotein in the assessment of fetal well-being.
Australian Journal of Medical Laboratory Sciences, 2, 85-89.
6. SPELLACY, W.N. and al. (1974)
Distribution of human placental lactogen in the last half of normal and complicated pregnancies.
Am. J. Obstet. Gynecol. 120, 214-223.

XVIII. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	TOTAL COUNTS µl	CALIBRATORS µl	SAMPLE (S) CONTROLS µl
Calibrators (0 to 5)	-	25	-
Samples, Controls	-	-	25
Tracer	100	100	100
Incubation	1 hour at room temperature		
Separation Working Wash solution Separation	-	Aspirate (or decant) 2.0 ml Aspirate (or decant)	
Counting	Count tubes for 60 seconds		

DIASource Catalogue Nr : KIP1149	P.I. Number : 1700470/en	Revision nr : 090422/1
-------------------------------------	-----------------------------	---------------------------

Revision date : 2009-04-22

Lire entièrement le protocole avant utilisation.

hPL-RIA-CT

I. BUT DU DOSAGE

Trousse de dosage radio-immunologique pour la mesure quantitative *in vitro* de l'hormone Placentaire Lactogène humaine (hPL) dans le sérum et le plasma humain.

II. INFORMATIONS GENERALES

- A. **Nom du produit :** DIASource hPL-RIA-CT kit
- B. **Numéro de catalogue:** KIP1149 : 96 tests
- C. **Fabriqué par :** DIASource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgique.

Pour une assistance technique ou une information sur une commande :
Tel : +32 (0)67 88.99.99 Fax : +32 (0)67 88.99.96

III. CONTEXTE CLINIQUE

A. Activités biologiques

L'hormone Placentaire Lactogène humaine (hPL) est un dimère de deux chaînes polypeptidiques avec un poids équivalent (19 000) avec des activités lactogéniques, lutéotropes et des activités de croissance. L'hPL, qui est produite par les cellules trophoblastiques du placenta normal ou par des tissus de tumeur trophoblastique, a une composition d'acides aminés fort similaire à celle de l'hGH, et à un degré moindre à celle de la prolactine. L'hPL devient détectable dans le sérum environ à partir de la 6^{ème} semaine de la grossesse : plus tard, les taux en hPL dans le sérum augmentent progressivement lors de la grossesse pour atteindre un plateau de 2-10 µg/ml vers la 34^{ème} semaine, ce qui indique directement la croissance du tissu placentaire. En raison de la demi-vie plasmatique courte ($\pm$ 20 minutes), l'hPL devient impossible à détecter dans le sérum 4 heures après l'accouchement.

B. Applications cliniques

- **Observation de la fonction placentaire pendant la grossesse**
La hPL-RIA est une des techniques biochimiques principales pour l'observation de la fonction placentaire pendant le dernier trimestre de la grossesse ; la mesure du taux en hPL dans le sérum est également utilisée comme paramètre pronostique s'il y a des saignements vaginaux lors du premier trimestre de la grossesse.
- **Diagnostic de grossesse molaire et de néoplasme chorionique**
La mesure des taux en hPL dans le sérum est une aide utile pour le diagnostic de la grossesse molaire si elle est utilisée conjointement à la mesure du taux en hCG (ratio hCG/hPL). Des taux en hCG élevés en combinaison avec une valeur en hPL basse suggèrent une grossesse molaire ou une tumeur chorionique.

IV. PRINCIPE DU DOSAGE

Une quantité fixe de hPL marquée à l’¹²⁵I est en compétition avec la hPL à mesurer et présente dans l’échantillon ou dans le calibrateur pour une quantité fixe d’anticorps immobilisés sur les parois du tube en polystyrène. Aucune extraction ni chromatographie n’est requise à cause de la haute spécificité de l’anticorps fixé. Après 1 heure d’incubation à température ambiante, le liquide est aspiré pour terminer la réaction de compétition. Les tubes sont lavés avec 2 ml de Solution de Lavage et aspirés à nouveau. Une courbe de calibration est réalisée et la concentration en hPL des échantillons est déterminée par interpolation de la dose sur la courbe de calibration.

V. REACTIFS FOURNIS

Réactifs	96 Tests	Code couleur	Reconstitution			
 Tubes recouverts avec l’anti hPL (anticorps monoclonaux)	2 x 48	Brun	Prêt à l’emploi			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRACEUR: hPL marquée à l’ ¹²⁵ Iodine (grade HPLC) dans un tampon phosphate avec de l’albumine bovine, benzamidine et de l’azide (<0,1%)	Ag	¹²⁵ I	1 flacon 10,5 ml 90 kBq	Rouge	Prêt à l’emploi	
Ag	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Calibrateur zéro dans un tampon phosphate avec de l’albumine bovine et du thymol.	CAL	0	1 flacon lyophilisé	Jaune	Ajouter 2 ml d’eau distillée	
CAL	0					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibrateurs hPL - N = 1 à 5 (cfr. valeurs exactes sur chaque flacon) dans un tampon phosphate phosphate avec de l’albumine bovine et du thymol.	CAL	N	5 flacons lyophilisés	Jaune	Ajouter 0,5 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	Brun	Diluer 70x 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 et du thymol	CONTROL	N	2 flacons lyophilisés	Gris	Ajouter 0,5 ml d’eau distillée	
CONTROL	N					

Note : Utiliser le calibrateur zéro pour la dilution des échantillons
1 µg de la préparation du calibrateur est équivalent à 1 µIU NIBSC
IRP 73/545.

VI. MATERIEL NON FOURNI

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

- Eau distillée
- Pipettes pour distribuer: 25 µl, 100 µl, 500 µl et 2 ml (l’utilisation de pipettes précises et de pointes jetables en plastique est recommandée)
- Agitateur vortex
- Agitateur magnétique
- Seringue automatique de 5 ml (type Cornwall) pour les lavages
- Système d’aspiration
- Tout compteur gamma capable de mesurer l’¹²⁵I peut être utilisé (rendement minimum 70%).

VII. PREPARATION DES REACTIFS

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

VIII. STOCKAGE ET DATE D’EXPIRATION DES REACTIFS

- Avant l’ouverture ou la reconstitution, tous les composants de la trousse sont stables jusqu’à la date d’expiration, indiquée sur l’étiquette, si la trousse est conservée entre 2 et 8°C.
- Après reconstitution, les calibrateurs et les contrôles sont stables pendant une semaine 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. 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 (EDTA ou héparinés) donne des résultats similaires.
Y (sérum) = 1,03 x (EDTA plasma) – 0,0005 r = 0,98 n = 22
Y (sérum) = 0,89x (hep. plasma) – 0,0135 r = 0,98 n = 21

X. MODE OPERATOIRE

- 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.**
Mélanger à fond 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.

- Mode opératoire**
 - Identifier les tubes recouverts fournis dans la trousse en double pour chaque calibrateur, échantillon, contrôle. Pour la détermination de l’activité totale, identifier 2 tubes non recouverts.
 - Agiter au vortex brièvement les calibrateurs, les échantillons et les contrôles. Puis distribuer 25 µl de chacun d’eux dans leurs tubes respectifs.
 - Distribuer 100 µl de hPL marquée à l’¹²⁵Iodine dans chaque tube, y compris les tubes sans anticorps pour la détermination de l’activité totale.
 - Agiter gentiment le portoir de tube pour libérer toute bulle d’air emprisonnée.
 - Incuber pendant 1 heure à temperature ambiante.
 - Aspirer le contenu de chaque tube (à l’exception des tubes utilisés pour la détermination de l’activité totale). Assurez-vous que la pointe utilisée pour aspirer le liquide des tubes atteint le fond de chacun d’eux pour éliminer toute trace de liquide.
 - Laver les tubes avec 2 ml de Solution de Lavage (à l’exception des tubes utilisés pour la détermination de l’activité totale) et aspirer. Eviter la formation de mousse pendant l’addition de la Solution de Lavage.
 - Laisser les tubes droits pendant 2 minutes et aspirer le reste de liquide.
 - Placer les tubes dans un compteur gamma pendant 60 secondes pour quantifier la radioactivité.

XI. CALCUL DES RESULTATS

- Calculer la moyenne de chaque détermination réalisée en double.
- Calculer la capacité de liaison de l’essai comme un pourcentage de liaison déterminé au point de calibration (0) en suivant la formule ci-dessous :

$$B/B0(\%) = \frac{\text{moyenne des cpm (CAL ou échantillon)}}{\text{moyenne des cpm (CAL 0)}} \times 100$$

- Utiliser un “3 cycle semi-logarithmic” ou un papier graphique “logit-log”, porter en ordonnée les valeurs exprimées en pourcentage de liaison (B/B0(%)) de chaque point de calibration et en abscisse leur concentration respective en hPL, écarter les valeurs aberrantes.

4. Des méthodes informatiques peuvent aussi être utilisées pour construire la courbe de calibration. 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.
5. L'interpolation des valeurs de chaque échantillon (B/B0(%)) détermine les concentrations en hPL à partir de la courbe de calibration.
6. Pour chaque essai, le pourcentage total de traceur lié en absence de hPL non marquée (B0/T) doit être vérifié.

XII. DONNEES TYPES

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

hPL		cpm	B/Bo (%)
Activité totale		27305	
Calibrateur	0,0 µg/ml	13935	100,0
	0,35 µg/ml	11471	82,3
	0,73 µg/ml	9704	69,6
	1,35 µg/ml	7019	50,4
	3,8 µg/ml	3889	27,9
	11,8 µg/ml	1682	12,1

XIII. PERFORMANCE ET LIMITES DU DOSAGE

- A. Limite de détection
- 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 en-dessous de la moyenne déterminée à la fixation zéro, était de 0,1 µg/ml.

B. Spécificité

Hormone	Pas d'interférence significative jusqu'à	
LH	40000	mIU/ml
FSH	60000	mIU/ml
TSH	200	mIU/ml
hCG	300000	mIU/ml
PRL	50000	ng/ml
hGH	2500	ng/ml

C. Précision

INTRA-ESSAI				INTER-ESSAI			
Sérum	N	<X> ± SD (µg/ml)	CV (%)	Sérum	N	<X> ± SD (µg/ml)	CV (%)
A	10	1,65 ± 0,06	3,6	A	20	1,78 ± 0,10	5,7
B	10	4,72 ± 0,09	2,0	B	20	4,83 ± 0,34	6,9

SD : Déviation Standard; CV: Coefficient de variation

D. Exactitude

TEST DE DILUTION			
Echantillon	Dilution	Concent. Théorique (µg/ml)	Concent. Mesurée (µg/ml)
A	1/1	-	9,9
	1/2	5,0	5,0
	1/4	2,5	2,9
	1/8	1,2	1,4
	1/16	0,6	0,6
	1/32	0,3	0,3
B	1/1	-	9,9
	1/2	5,0	6,0
	1/4	2,5	2,9
	1/8	1,2	1,4
	1/16	0,6	0,7
	1/32	0,3	0,3

L'échantillon a été dilué avec le Calibrateur zéro.

TEST DE RECUPERATION			
Echantillon	hPL ajouté (µg/ml)	hPL récupéré (µg/ml)	Recupération (%)
1	0,6	0,6	101
	1,25	1,19	96
	2,5	2,67	107
	5	4,95	99
	10	8,56	86
2	1,25	1,19	95
	2,5	2,46	98
	5	4,72	94

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 60 minutes après que le calibrateur ait été ajouté aux tubes avec l'anticorps.

DELAI					
Sérum µg/ml	0'	15'	30'	45'	60'
C 1	1,6	1,8	1,8	1,9	1,9
C 2	4,7	5	5,1	5,1	5,2

XIV. CONTROLE 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 en duplicat 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.

Trimestres de grossesse	N	Médiane (µg/ml)	Portée
1er trimestre	23	0,7	0,4 – 2,3
2e trimestre	30	2,3	0,8 – 5,7
3e trimestre	29	5,7	1,1 – 9,5

(*) Portée basée sur les percentiles de 2,5% & 97,5%.

XVI. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

Sécurité

Pour utilisation en diagnostic *in vitro* uniquement.

Cette trousse contient de I¹²⁵ (demi-vie: 60 jours), une matière radioactive émettant des rayonnements ionisants X (28 keV) et γ (35.5 keV).

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

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

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

Les composants de sang humain inclus dans 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

- CHARD, T.
Placental lactogen : biology and clinical applications, In :
GRUNDINSKAS JG, TEISNER B, SEPPALA M. (1981)
Eds Pregnancy proteins: Biology, Chemistry, and clinical Applications
New Yoric : Academic Press, 101-118.
- CHOSIGNANI, P.G. and al. (1974)
Value of hCG and hCS measurements in clinical practice.
Obstetrics and Gynecology 44, 673-81.
- GRANT, M. and al. (1977)
Further investigation on the predictive value of human placental lactogen in high risk pregnancies.
Am. J. Obstet. Gynecol. 129,647.
- HARRIGAN, J.T. and al. (1976)
Predictive value of human placental lactogen determination in pregnancy.
Obstetrics and Gynecology, 47, 443-445.

- ISQUARD, G. (1981)
A comparison of serum measurements of unconjugated oestriol, total oestriol, human placental lactogen and pregnancy-specific \$ glycoprotein in the assessment of fetal well-being.
Australian Journal of Medical Laboratory Sciences, 2, 85-89.
- SPELLACY, W.N. and al. (1974)
Distribution of human placental lactogen in the last half of normal and complicated pregnancies.
Am. J. Obstet. Gynecol. 120, 214-223.

XVIII. RESUME DU PROTOCOLE

	ACTIVITE TOTALE (µl)	CALIBRA- TEURS (µl)	ECHANTIL- LON(S) CONTROLES (µl)
Calibrateurs (0 à 5) Echantillons, contrôles Traceur	- - 100	25 - 100	- 25 100
Incubation	1 heure à température ambiante		
Séparation Solution de Lavage Séparation	-	Aspiration (ou décanter) 2,0 ml Aspiration (ou décanter)	
Comptage (radioactivité)	Temps de comptage des tubes : 60 secondes		

Numéro de catalogue DIAsource: KIP1149	Numéro de P.I.: 1700470/fr	Numéro de révision: 090422/1
--	-------------------------------	---------------------------------

Vor Gebrauch des Kits lesen Sie bitte diese Packungsbeilage.

hPL-RIA-CT

I. VERWENDUNGSZWECK

Ein Radio-Immunoassay für die quantitative *in vitro* Bestimmung von humanem Plazenta-Laktogen (hPL) in Serum und Plasma.

II. ALLGEMEINE INFORMATION

- A. **Handelsbezeichnung :** DIAsource hPL-RIA-CT Kit
- B. **Katalognummer :** KIP1149 : 96 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

A. Biologische Aktivität

Humanes Plazenta-Laktogenprotein (hPL) ist ein Dimer, das aus zwei Polypeptidketten mit je einem Molekulargewicht von 19.000 besteht. Es besitzt laktogene, luteotrope und somatotrope Aktivitäten. hPL wird von den Zellen des Trophoblasten der Plazenta, aber auch von trophoblastischem Tumorgewebe gebildet. Seine Aminosäuresequenz ist der von hGH sehr ähnlich und hat auch eine gewisse Übereinstimmung mit der von Prolaktin. hPL ist im Serum ab der 6. Schwangerschaftswoche nachweisbar. Die hPL-Werte im Serum steigen im Verlauf der weiteren Schwangerschaft bis zu einem Plateauwert von 2-10 µg/ml um die 34. Woche an. Der hPL-Anstieg gibt direkt das Wachstum des Plazentagewebes wieder. Wegen der kurzen Plasmahalbwertszeit (ca. 20 Minuten) ist hPL 4 Stunden nach dem Partus nicht mehr nachweisbar.

B. Klinische Anwendungen

- **Überprüfung der Plazentafunktion während der Schwangerschaft**
hPL-RIA ist eine der wichtigsten biochemischen Techniken zur Überprüfung der Plazentafunktion während des letzten Trimesters der Schwangerschaft; die Messung des hPL-Spiegels im Serum wird auch als prognostischer Marker bei Vaginalblutungen während des ersten Trimesters der Schwangerschaft eingesetzt.
- **Diagnose(-hilfe) bei Blasenmolen und Neoplasien des Chorions**
Die Messung des hPL-Spiegels im Serum ist eine nützliche Hilfe bei der Diagnostizierung von Blasenmolen, wenn zugleich der hCG-Spiegel (hCG/hPL-Verhältnis) gemessen wird. Ein hoher hCG-Spiegel in Verbindung mit einem niedrigen hPL-Spiegel weist auf eine Blasenmole oder auf eine Neoplasie des Chorions hin.

IV. GRUNDSÄTZLICHES ZUR DURCHFÜHRUNG

Eine festgesetzte Menge an ¹²⁵I markiertem hPL konkurriert mit dem zu messenden, in der Probe oder in dem Kalibrator vorhandenen hPL um eine Menge an Antikörperbindungsstellen, die an der Wand des Polystyren Röhrchens fixiert sind. Aufgrund der hohen Spezifität der beschichteten Antikörper sind weder Extraktion noch Chromatographie erforderlich. Nach 1 Stunde Inkubation bei Raumtemperatur, beendet das Absaugen die Verdrängungsreaktion. Die Röhrchen werden anschliessend mit Waschlösung gewaschen, danach wird nochmals abgesaugt. Eine Standardkurve wird gedruckt und die hPL-Konzentrationen der Proben werden über Dosis Interpolation der Kalibrationskurve bestimmt.

V. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenz	96 Test Kit	Farbcode	Rekonstitution
 Mit anti hPL (monoklonale Antikörper)	2 x 48	braun	Gebrauchsfertig
Ag ¹²⁵I Tracer : ¹²⁵ Iod markiertes hPL (HPLC grade) in Phosphatpuffer mit Rinderserumalbumin, benzamidin und Azid (<0,1%)	1 Gefäß 10,5 ml 90 kBq	rot	Gebrauchsfertig
CAL 0 Null-Kalibrator: Phosphatpuffer mit Rinderserumalbumin, benzamidin und Thymol	1 Gefäß lyophilisiert	gelb	2 ml dest. Wasser zugeben
CAL N Kalibratoren: N = 1 bis 5 (genaue Werte auf Gefäß-Etiketten) in Phosphatpuffer mit Rinderserumalbumin, benzamidin und Thymol	5 Gefäße lyophilisiert	gelb	0,5 ml dest. Wasser zugeben
WASH SOLN CONC Waschlösung (TRIS-HCl)	1 Gefäß 10 ml	braun	70x mit dest. Wasser (Magnetrührer verwenden) verdünnen .
CONTROL N Kontrollen : N = 1 oder 2 in Humanserum und Thymol	2 Gefäße lyophilisiert	silber	0,5 ml dest. Wasser zugeben

Bemerkung : Benutzen Sie den Null-Kalibrator für Probenverdünnungen.
1 µg der Kalibrationszubereitung ist äquivalent zu 1 µIU NIBSC IRP 73/545.

VI. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

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

- Dest. Wasser
- Pipetten: 25 µl, 100 µl, 500 µl und 2 ml (Verwendung von Präzisionspipetten mit Einwegpipettenspitzen wird empfohlen)
- Vortexmischer
- Magnetrührer
- 5 ml automatische Spritze (Cornwall-Typ) zum Waschen
- Absaugsystem (optional)
- Jeder Gamma-Counter, der ¹²⁵I messen kann, kann verwendet werden. Maximale Messeffizienz sollte gewährleistet sein.

VII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- A. **Kalibratoren :** Rekonstituieren Sie den Null Kalibrator mit 2 ml destilliertes Wasser, die anderen Kalibratoren mit 0,5 ml destilliertes Wasser.
- B. **Kontrollen :** Rekonstituieren Sie die Kontrollen mit 0,5 ml destilliertes Wasser.
- C. **Waschlösung:** Zur Vorbereitung eines angemessenen Volumens nutzbarer Waschlösung, mischen Sie zu einem Volumen Waschlösung (70x) 69 Volumen destilliertes Wasser. Benutzen Sie einen Magnetrührer. Entsorgen Sie nach jedem Arbeitstag die überflüssige Waschlösung.

VIII. AUFBEWAHRUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Vor dem Öffnen und Rekonstituieren sind alle Kitkomponenten bei 2 bis 8°C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar.
- Nach der Rekonstitution sind die Kontrollen 7 Tage bei 2 bis 8 °C stabil. Für eine längere Aufbewahrung sollten diese Reagenzien aliquotiert und bei –20°C eingefroren werden, dann sind sie 3 Monate haltbar. Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
- Die Waschlösung sollte frisch hergestellt und am selben Tag aufgebraucht werden.
- Wenn der Tracer nach der ersten Benutzung wieder im gutverschlossenen Originalgefäß bei 2 bis 8°C aufbewahrt wird, ist er bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.
- Veränderungen im Aussehen der Kitkomponenten können auf Instabilität bzw. Zerfall hindeuten.

IX. PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG

- Serum- oder Plasmaproben müssen bei 2-8 °C aufbewahrt werden.
- Falls der Test nicht innerhalb von 24 Std. durchgeführt wird, müssen die Porben bei –20°C aufgehoben werden.
- Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
- Serum oder Heparinisiertes Plasma liefern ähnliche Ergebnisse
Y (serum) = 1,03 x (EDTA plasma) – 0,0005 r = 0,98 n = 22
Y (serum) = 0,89x (Heparinisiertes plasma) – 0,0135 r = 0,98 n = 21

X. DURCHFÜHRUNG

- A. **Bemerkungen zur Durchführung**
Verwenden Sie den Kit oder dessen Komponenten nicht nach dem Ablaufdatum. Vermischen Sie nie Materialien von unterschiedlichen Kit-Chargen. Bringen Sie alle Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur.
Mischen Sie alle Reagenzien und Proben gründlich durch sanftes Schütteln oder Rühren. Verwenden Sie saubere Einwegpipettenspitzen, 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 Kalibrationskurve, verwenden Sie nicht die Daten von früheren Durchläufen.

- B. **Durchführung**
- Beschriften Sie je 2 beschichtete Röhrchen für jeden Kalibrator, jede Probe und jede Kontrolle. Zur Bestimmung der Gesamtaktivität, beschriften Sie 2 normale Röhrchen.
 - Vortexen Sie Kalibratoren, Proben und Kontrollen kurz und geben Sie 25 µl von jedem in ihre Röhrchen.
 - Geben Sie 100 µl des ¹²⁵Iod markierten hPL in jedes Röhrchen, einschließlich der unbeschichteten Röhrchen für die Gesamtaktivität.
 - Schütteln Sie vorsichtig die Halterung mit den Röhrchen um Blasen zu entfernen.
 - Inkubieren Sie 1 Stunde bei Raumtemperatur.
 - Saugen Sie den Inhalt jedes Röhrchens ab (oder dekant), außer Gesamtaktivität. Vergewissern Sie sich, dass die Plastikspitze des Absaugers den Boden des beschichteten Röhrchens erreicht, um die gesamte Flüssigkeit zu entfernen.
 - Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekant). Vermeiden Sie Schaumbildung bei Zugabe der Waschlösung.
 - Lassen Sie die Röhrchen 2 Minuten aufrecht stehen, und saugen Sie den verbleibenden Flüssigkeitstropfen ab.
 - Werten Sie die Röhrchen in einem Gamma-Counter über 60 Sekunden aus.

XI. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

- Berechnen Sie den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen.
- Berechnen Sie die gebundene Radioaktivität als Prozentsatz des am Null-Kalibratorpunkt (0) bestimmten Wertes nach folgender Formel:

$$B/B0 (\%) = \frac{\text{Aktivität (Kalibrator oder Probe)}}{\text{Aktivität (Null-Kalibrator)}} \times 100$$

- Verwenden Sie semi-logarithmisches oder doppelt-logarithmisches Millimeterpapier (über 3 Größenordnungen) drucken Sie die (B/B0(%)) Werte für jeden Kalibratorpunkt als Funktion der hPL-Konzentration für jeden Kalibratorpunkt, schließen Sie offensichtliche „Ausreißer“ aus.

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.
5. Bestimmen Sie die hPL-Konzentrationen der Proben über Interpolation der Probenwerte B/B0(%) der Referenzkurve.
6. Bei jedem Assay muss der Prozentsatz des gesamten gebundenen Tracers ohne unmarkiertes hPL (B0/T) geprüft werden.

XII. TYPISCHE WERTE

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

hPL		cpm	B/Bo (%)
Gesamtaktivität		27305	
Kalibrator	0,0 µg/ml	13935	100,0
	0,35 µg/ml	11471	82,3
	0,73 µg/ml	9704	69,6
	1,35 µg/ml	7019	50,4
	3,8 µg/ml	3889	27,9
	11,8 µg/ml	1682	12,1

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 unterhalb des gemessenen Durchschnittswerts bei Nullbindung, entsprach 0,1 µg/ml.

B. Spezifität

Hormon	Keine signifikante Interferenz bis	
LH	40000	mIU/ml
FSH	60000	mIU/ml
TSH	200	mIU/ml
hCG	300000	mIU/ml
PRL	50000	ng/ml
hGH	2500	ng/ml

C. Präzision

INTRA-ASSAY PRÄZISION				INTER-ASSAY PRÄZISION			
Serum	N	<X> ± SD (µg/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (µg/ml)	CV (%)
A	10	1,65 ± 0,06	3,6	A	20	1,78 ± 0,10	5,7
B	10	4,72 ± 0,09	2,0	B	20	4,83 ± 0,34	6,9

SD : Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

D. Genauigkeit

VERDÜNNUNGSTEST			
Probe	Verdünnung	Theoretische Konzent. (µg/ml)	Gemessene Konzent. (µg/ml)
A	1/1	-	9,9
	1/2	5,0	5,0
	1/4	2,5	2,9
	1/8	1,2	1,4
	1/16	0,6	0,6
	1/32	0,3	0,3
B	1/1	-	9,9
	1/2	5,0	6,0
	1/4	2,5	2,9
	1/8	1,2	1,4
	1/16	0,6	0,7
	1/32	0,3	0,3

Die Proben wurden mit Null-Kalibrator verdünnt.

WIEDERFINDUNGSTEST			
Probe	Zugeg. hPL (µg/ml)	Wiedergef. hPL (µg/ml)	Wiedergefunden (%)
1	0,6	0,6	101
	1,25	1,19	96
	2,5	2,67	107
	5	4,95	99
	10	8,56	86
2	1,25	1,19	95
	2,5	2,46	98
	5	4,72	94

E. Zeitverzögerung zwischen letzter Kalibrator- und Probenzugabe

Es wird im folgenden gezeigt, dass die Genauigkeit der Tests selbst dann erhalten bleibt, wenn die Probe 60 Minuten nach Zugabe des Kalibrators in die beschichteten Röhrchen zugefügt wird.

ZEITABSTAND					
Serum µg/ml	0'	15'	30'	45'	60'
C 1	1,6	1,8	1,8	1,9	1,9
C 2	4,7	5	5,1	5,1	5,2

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. Erinnern Sie sich, dass zwei Gefrier-Auftau-Zyklen erlaubt sind.
- Akzeptanzkriterien für die Differenz zwischen den Resultaten der Wiederholungstests anhand der Proben müssen auf Guter Laborpraxis beruhen.

XV. ZU ERWARTENDER BEREICH

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

Schwangerschaft Trimester	N	Konzentrationsbereich (*) (µg/ml)	Bereich
1. Trimester	23	0,7	0,4 – 2,3
2. Trimester	30	2,3	0,8 – 5,7
3. Trimester	29	5,7	1,1 – 9,5

XVI. 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 Laborausstattung und die Glasbehälter, die mit radioaktiven Substanzen kontaminiert werden können, müssen ausgesondert werden, um Kreuzkontaminationen mit unterschiedlichen Radioisotopen zu verhindern.
Verschüttete radioaktive Substanzen müssen sofort den Sicherheitsbestimmungen entsprechend entfernt werden. Radioaktive Abfälle müssen entsprechend den lokalen Bestimmungen und Richtlinien der für das Labor zuständigen Behörden gelagert werden. Das Einhalten der Sicherheitsbestimmungen für den Umgang mit radioaktiven Substanzen gewährleistet ausreichenden Schutz.

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

Alle tierischen Produkte und deren Derivate wurden von gesunden Tieren gesammelt. Komponenten von Rindern stammen aus Ländern in denen BSE nicht nachgewiesen wurde. Trotzdem sollten Komponenten, die tierische Substanzen enthalten, als potentiell ansteckend behandelt werden.

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

Bitte rauchen, trinken, essen oder wenden Sie Kosmetika nicht in Ihrem Arbeitsbereich an. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Tragen Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

XVII. LITERATUR

- CHARD, T.
Placental lactogen : biology and clinical applications, In :
GRUNDINSKAS JG, TEISNER B, SEPPALA M. (1981)
Eds Pregnancy proteins: Biology, Chemistry, and clinical Applications
New Yoric : Academic Press, 101-118.
- CHOSIGNANI, P.G. and al. (1974)
Value of hCG and hCS measurements in clinical practice.
Obstetrics and Gynecology 44, 673-81.
- GRANT, M. and al. (1977)
Further investigation on the predictive value of human placental lactogen in high risk pregnancies.
Am. J. Obstet. Gynecol. 129,647.
- HARRIGAN, J.T. and al. (1976)
Predictive value of human placental lactogen determination in pregnancy.
Obstetrics and Gynecology, 47, 443-445.

- ISQUARD, G. (1981)
A comparison of serum measurements of unconjugated oestriol, total oestriol, human placental lactogen and pregnancy-specific \$ glycoprotein in the assessment of fetal well-being.
Australian Journal of Medical Laboratory Sciences, 2, 85-89.
- SPELLACY, W.N. and al. (1974)
Distribution of human placental lactogen in the last half of normal and complicated pregnancies.
Am. J. Obstet. Gynecol. 120, 214-223.

XVIII.ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

	GESAMT- AKTIVITÄ T (µl)	KALIBRA- TOREN (µl)	PROBE(N)- KONTROL LEN (µl)
Kalibratoren (0 to 5) Proben, Kontrollen Tracer	- - 100	25 - 100	- 25 100
Inkubation	1 Std. Bei Raumtemperatur		
Separation Waschlösung Separation	-	absaugen (oder dekant) 2,0 ml absaugen (oder dekant)	
Auswertung	Messen der Röhrchen 60 Sekunden		

DIAsource Katalognummer: KIP1149	Beipackzettel- nummer: 1700470/de	Nummer der Originalausgabe: 090422/1
-------------------------------------	--------------------------------------	--

Revisionsdatum : 2009-04-22

Lees het hele protocol vóór gebruik.

hPL-RIA-CT

I. BEOOGD GEBRUIK

Radioimmunoassay voor de kwantitatieve bepaling *in vitro* van humaan Placentair Lactogeen (hPL) in

II. ALGEMENE INFORMATIE

- A. Gedeponiseerd handelsmerk:** DIAsource hPL-RIA-CT kit
- B. Catalogusnummer:** KIP1149 : 96 tests
- 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

A. Biologische werkingsmechanismen

Humaan Placentair Lactogeen (hPL) is een dimeer van twee polypeptideketens met een equivalent gewicht (19.000) met lactogene, luteotrope en groeiactiviteiten. hPL, dat geproduceerd wordt door trofoblast cellen van de normale placenta of door trofoblast tumorweefsel, heeft een aminozuursamenstelling gelijkaardig aan die van hGH, en in mindere mate aan die van prolactine. hPL is opspoorbaar in serum vanaf ongeveer de 6^{de} week van de zwangerschap: daarna verhoogt het hPL-gehalte in serum progressief tijdens de zwangerschap om een plafond van 2-10 µg/ml te bereiken tegen de 34^{ste} week, wat de groei van het placentaire weefsel rechtstreeks weergeeft. Door zijn kort plasma halfleven ($\pm$ 20 minuten), wordt hPL onopspoorbaar in serum 4 uur na de bevalling.

B. Klinische toepassing

- ***Beoordeling van de placentaire functie tijdens de zwangerschap***
De hPL-RIA is een van de belangrijkste biochemische technieken om de placentaire functie te beoordelen tijdens het laatste trimester van de zwangerschap; de meting van het hPL-gehalte in serum wordt ook gebruikt als een prognostische parameter in geval van vaginale bloeding tijdens het eerste trimester van de zwangerschap.
- ***Diagnose van molaire zwangerschap en chorion neoplasma***
De meting van het hPL-gehalte in serum is een nuttige hulp bij de diagnose van molaire zwangerschap als zij samen met de meting van het hCG-gehalte wordt gebruikt (hCG/hPL ratio). Een hoog hCG-gehalte samen met een lage hPL-waarde suggereert molaire zwangerschap of een chorion tumor.

IV. BESCHRIJVING VAN DE METHODE

Een vaste hoeveelheid ¹²⁵I gelabeld hPL concurreert met hPL dat bepaald moet worden en aanwezig is in het monster of in de kalibrator voor een vast aantal plaatsen met antilichamen die geïmmobiliseerd zijn aan de wand van een buisje van polystyreen. Vanwege de hoge specificiteit van de gecoate antilichamen is er geen extractie of chromatografie vereist. Na een incubatieperiode van 1 uur bij kamertemperatuur, wordt de concurrentiereactie beëindigd door een aspiratiefase. Daarna worden de buisjes gewassen met 2 ml werk-wasoplossing en opnieuw afgezogen. Een kalibratiecurve wordt uitgezet en de concentraties van hPL van de monsters worden bepaald door dosisinterpolatie van de kalibratiecurve.

V. GELEVERDE REAGENTIA

Reagens	Kit voor 96 testen	Kleur -code	Reconstitutie			
 Buisjes gecoat met anti hPL (monoklonale antilichamen)	2 x 48	Bruin	Klaar voor gebruik			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> Tracer : hPL gelabeld met ¹²⁵ jood (HPLC-kwaliteit) in fosfaat buffer met bovien serumalbumine, benzamidine en azide (< 0,1%)	Ag	¹²⁵ I	1 flacon 10,5 ml 90 kBq	Rood	Klaar voor gebruik	
Ag	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Nulkalibrator in fosfaat buffer met bovien serumalbumine en thymol	CAL	0	1 flacon gevries- droogd	Geel	2 ml gedistilleerd water toevoegen	
CAL	0					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibrators HPL : N = 1 tot 5 (zie de exacte waarden op de flaconetiketten) in humaan serum min fosfaat buffer met bovine serum albumin en thymol	CAL	N	5 flacons gevries- droogd	Geel	0,5 ml gedistilleerd water toevoegen	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Wasoplossing 70x : TRIS-HCl	WASH	SOLN	CONC	1 flacon 10 ml	Bruin	70x met gedistilleerd 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	zilver	0,5 ml gedestilleerd water toevoegen	
CONTROL	N					

Opmerking: Gebruik de nulkalibrator voor monsterverdunningen
1 µg van de kalibratorbereiding is gelijk aan 1 µIU NIBSC IRP 73/545.

VI. NIET MEEGELEVERDE MATERIALEN

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

- Gedistilleerd water.
- Pipetten voor een volume van 25 µl, 100 µl, 500 µl en 2 ml (het gebruik van nauwkeurige pipetten met plastic wegwerptips wordt aanbevolen).
- Vortexmenger.
- Magnetische roerder.
- Automatische spuit van 5 ml (type Cornwall) voor de wasfase.
- Afzuigstelsysteem (facultatief).
- Een gammateller die geschikt is voor de bepaling van ¹²⁵I. Een maximale telefficiëntie moet worden gegarandeerd.

VII. BEREIDING VAN HET REAGENS

- A. Kalibrators:** Reconstitueer de nulkalibrator met 2 ml gedestilleerd water en de andere kalibrators met 0,5 ml gedistilleerd water.
- B. Controles:** Reconstitueer de controles met 0,5 ml gedistilleerd water.
- C. Werk-wasoplossing:** Bereid een voldoende hoeveelheid werk-wasoplossing door 69 eenheden gedistilleerd water toe te voegen aan 1 eenheid wasoplossing. 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 controles gedurende 1 week houdbaar bij 2 tot 8°C. Voor een langere bewaartermijn moeten aliquots gemaakt worden, die bij -20°C bewaard moeten worden. Vermijd herhaalde invriezing en ontdooiing.
- 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 moeten bij 2-8°C bewaard worden.
- Indien de bepaling niet binnen 24 uur uitgevoerd wordt, dan wordt aanbevolen om ze bij -20°C te bewaren.
- Vermijd herhaalde invriezing en ontdooiing.
- Serum of plasma (heparine of EDTA) geven vergelijkbare resultaten
Y (serum) = 1,03 x (EDTA plasma) – 0,0005 r = 0,98 n = 22
Y (serum) = 0,89x (heparine plasma) – 0,0135 r = 0,98 n = 21

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**
 - Etikettee de gecoate buisjes in duplo voor elke kalibrator, voor elk monster, voor elke controle. Etikettee 2 normale buisjes voor de bepaling van de totaal tellingen.
 - Vortex de kalibrators, monsters en controles gedurende korte tijd en pipetteer 25 µl van elk in het desbetreffende buisje.
 - Pipetteer 100 µl hPL de totaal tellingen.
 - Schud het rek met de buisjes voorzichtig zodat eventuele ingesloten luchtballen vrijkomen.
 - Incubeer gedurende 1 uur bij kamertemperatuur.
 - Zuig de inhoud van elk buisje (met uitzondering van de totaal tellingen) op Zorg ervoor dat de plastic tip van de aspirator tot aan de bodem van het gecoate buisje komt zodat alle vloeistof verwijderd wordt.
 - Was de buisjes met 2 ml werk-wasvloeistof (met uitzondering van de totaal tellingen) en zuig op. Vermijd schuimvorming tijdens toevoeging van de werk-wasvloeistof.
 - Na de wasfase moeten de buisjes gedurende twee minuten rechtop blijven staan en zuig daarna de overblijvende vloeistof op.
 - Tel de buisjes in een gammateller gedurende 60 seconden.

XI. BEREKENING VAN DE RESULTATEN

- Bereken het gemiddelde voor de bepalingen in duplo.
- Bereken het percentage binding van de gebonden radioactiviteit, bepaald op het punt van de nulkalibrator (0), aan de hand van de volgende formule:

$$B/B0 (\%) = \frac{\text{cpm (Kalibrator of monster)}}{\text{cpm (Nulkalibrator)}} \times 100$$

- Zet de (B/B0(%)) waarden uit voor elk kalibratorpunt, als een functie van de hPL concentratie van elk kalibratorpunt, op 3-cyclisch semi-logaritmisch of dubbellogaritmisch papier, verwerp hierbij de duidelijke uitschieters.

- Ook computergestuurde methoden kunnen worden gebruikt om de kalibratiecurve te vormen. Indien de resultaten automatisch verwerkt worden, wordt de 4 parameter logistische functie aanbevolen voor de gepaste curve.
- Bepaal de hPL concentraties van de monsters uit de referentiecurve door de monsterwaarden (B/B0(%)) te interpoleren.
- Voor elke bepaling moet het totaalpercentage van de tracer, gebonden in afwezigheid van ongelabeld hPL (B0/T), gecontroleerd worden.

XII. KENMERKENDE GEGEVENS

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

hPL		cpm	B/Bo (%)
Totaaltelling		27305	
Kalibrator	0,0 µg/ml	13935	100,0
	0,35 µg/ml	11471	82,3
	0,73 µg/ml	9704	69,6
	1,35 µg/ml	7019	50,4
	3,8 µg/ml	3889	27,9
	11,8 µg/ml	1682	12,1

XIII. EIGENSCHAPPEN EN GRENZEN

A. Detectielimiet

Twintig nulkalibrators werden bepaald, samen met de serie andere kalibrators. De detectielimiet, omschreven als de schijnbare concentratie van twee standaarddeviaties onder de gemiddelde tellingen bij nulbinding, bedroeg 0,1 µg/ml.

B. Specificiteit

Hormoon	Geen significante interferentie tot	
LH	40000	mIU/ml
FSH	60000	mIU/ml
TSH	200	mIU/ml
hCG	300000	mIU/ml
PRL	50000	ng/ml
hGH	2500	ng/ml

C. Precisie

PRECISIE BINNEN EEN TEST

PRECISIE TUSSEN TESTEN

Serum	N	<X> ± SD (µg/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (µg/ml)	CV (%)
A	10	1,65 ± 0,06	3,6	A	20	1,78 ± 0,10	5,7
B	10	4,72 ± 0,09	2,0	B	20	4,83 ± 0,34	6,9

SD: standaarddeviatie; VC: variatiecoëfficiënt

D. Nauwkeurigheid

VERDUNNINGSTEST

Monster	Verdunning	Theoretische concentratie (µg/ml)	Concentratie die bepaald werd (µg/ml)
A	1/1	-	9,9
	1/2	5,0	5,0
	1/4	2,5	2,9
	1/8	1,2	1,4
	1/16	0,6	0,6
	1/32	0,3	0,3
B	1/1	-	9,9
	1/2	5,0	6,0
	1/4	2,5	2,9
	1/8	1,2	1,4
	1/16	0,6	0,7
	1/32	0,3	0,3

Monsters werden verdund met de Nulkalibrator.

RECOVERY-TEST

Monster	hPLtoegevoegd (µg/ml)	Recovery van hPL (µg/ml)	Recovery (%)
1	0,6	0,6	101
	1,25	1,19	96
	2,5	2,67	107
	5	4,95	99
	10	8,56	86
2	1,25	1,19	95
	2,5	2,46	98
	5	4,72	94

E. 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 60 minuten na toevoeging van de kalibrator over de gecoatde buisjes gedistribueerd wordt.

TIJDSPANNE					
Serum µg/ml	0'	15'	30'	45'	60'
C 1	1,6	1,8	1,8	1,9	1,9
C 2	4,7	5	5,1	5,1	5,2

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.

Trimestriëlen zwangerschap	N	Mediaan (µg/ml)	Bereik (µg/ml)
1°Trimester	23	0,7	0,4 – 2,3
2°Trimester	30	2,3	0,8 – 5,7
3°Trimester	29	5,7	1,1 – 9,5

(*) Bereik gebaseerd op 2,5% & 97,5% percentielen.

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 plasmamonsers 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 besmettelijk.

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.

XVII. BIBLIOGRAFIE

- CHARD, T.
Placental lactogen : biology and clinical applications, In :
GRUNDINSKAS JG, TEISNER B, SEPPALA M. (1981)
Eds Pregnancy proteins: Biology, Chemistry, and clinical Applications
New York : Academic Press, 101-118.
- CHOSIGNANI, P.G. and al. (1974)
Value of hCG and hCS measurements in clinical practice.
Obstetrics and Gynecology 44, 673-81.
- GRANT, M. and al. (1977)
Further investigation on the predictive value of human placental lactogen in high risk pregnancies.
Am. J. Obstet. Gynecol. 129,647.
- HARRIGAN, J.T. and al. (1976)
Predictive value of human placental lactogen determination in pregnancy.
Obstetrics and Gynecology, 47, 443-445.

- ISQUARD, G. (1981)
A comparison of serum measurements of unconjugated oestriol, total oestriol, human placental lactogen and pregnancy-specific \$ glycoprotein in the assessment of fetal well-being.
Australian Journal of Medical Laboratory Sciences, 2, 85-89.
- SPELLACY, W.N. and al. (1974)
Distribution of human placental lactogen in the last half of normal and complicated pregnancies.
Am. J. Obstet. Gynecol. 120, 214-223.

XVIII. SAMENVATTING VAN HET PROTOCOL

	TOTAAL- TELLINGEN (µl)	KALIBRATORS (µl)	MONSTER(S) CONTROLES (µl)
Kalibrators (0 tot 5) Monsters, controles Tracer	- - 100	25 - 100	- 25 100
Incubatie	1 uur bij kamer temperatuur		
Scheiding Werk-wasoplossing Scheiding	-	opzuigen (of decanteren) 2,0 ml opzuigen (of decanteren)	
Telling	Tel buisjes gedurende 60 seconden		

DIAsource catalogusnummer: KIP1149	Bijsluiternummer: 1700470/nl	Revisienummer: 090422/1
---------------------------------------	---------------------------------	----------------------------

Revisiedatum : 2009-04-22

Διαβάστε ολόκληρο το πρωτόκολλο πριν από τη χρήση.

hPL-RIA-CT

I. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Ραδιοανοσοπροσδιορισμός για την *in vitro* ποσοτική μέτρηση του ανθρώπινου πλακουντιανού γαλακτογόνου (hPL) σε ορό και πλάσμα.

II. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

- A. **Εμπορική ονομασία:** Κιτ hPL-RIA-CT της DIASource
- B. **Αριθμός καταλόγου:** KIP1149 : 96 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

A. Πλακουντιανό γαλακτογόνο

Ανθρώπινο Το ανθρώπινο πλακουντιανό γαλακτογόνο (hPL) είναι ένα διμερές δύο αλυσίδων πολυπεπτιδίων ισοδύναμου βάρους (19.000) με γαλακτογονικές, ωχρινοτροπικές και αυξητικές δράσεις. Το hPL, το οποίο παράγεται από τροφοβλαστικά κύτταρα του φυσιολογικού πλακούντα ή από ιστό τροφοβλαστικών όγκων, έχει σύνθεση αμινοξέος πολύ παρόμοια με εκείνη της hGH και, σε μικρότερη έκταση, με εκείνη της προλακτίνης. Το hPL είναι ανιχνεύσιμο στον ορό από περίπου την 6η εβδομάδα της κύησης: αργότερα τα επίπεδα του hPL στον ορό αυξάνονται διαδοχικά καθ' όλη τη διάρκεια της κύησης και φθάνουν σε ένα πλατό της τάξης των 2-10 $\mu\text{g/ml}$ μέχρι την 34η εβδομάδα εκφράζοντας άμεσα την ανάπτυξη του ιστού του πλακούντα. Λόγω της βραχείας ημιζωής του στο πλάσμα (± 20 λεπτά), το hPL είναι ανιχνεύσιμο στον ορό 4 ώρες μετά τη χορήγηση.

B. Κλινική εφαρμογή του hPL-RIA

- **Αξιολόγηση της λειτουργίας του πλακούντα κατά τη διάρκεια της κύησης**
Ο προσδιορισμός hPL-RIA είναι μια από τις κύριες βιοχημικές τεχνικές για την παρακολούθηση της λειτουργίας του πλακούντα κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της κύησης. Η μέτρηση του επιπέδου του hPL στον ορό χρησιμοποιείται επίσης ως παράμετρος πρόγνωσης όταν υπάρχει κολπική αιμορραγία κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της κύησης.
- **Διαγνωστικά στοιχεία μύλης κύησης και νεοπλάσματος του χορίου**
Η μέτρηση των επιπέδων του hPL στον ορό αποτελεί χρήσιμο βοήθημα για τη διάγνωση μύλης κύησης, όταν χρησιμοποιείται μαζί με τη μέτρηση του επιπέδου της hCG (λόγος hCG/hPL). Υψηλά επίπεδα hCG σε συνδυασμό με χαμηλή τιμή hPL υποδηλώνουν μύλη κύηση ή όγκο του χορίου.

IV. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Μια σταθερή ποσότητα hPL σημασμένου με ¹²⁵I ανταγωνίζεται με το hPL που θα μετρηθεί, το οποίο υπάρχει στο δείγμα ή στο βαθμονομητή, για σταθερή ποσότητα θέσεων αντισωμάτων που είναι ακινητοποιημένα στο τοίχωμα ενός σωληναρίου πολυστυρενίου. Δεν απαιτείται εκχύλιση ή χρωματογραφία λόγω της υψηλής ειδικότητας των επιστρωμένων αντισωμάτων. Μετά από επώαση 1 ώρας σε θερμοκρασία δωματίου, η αντίδραση ανταγωνισμού τερματίζεται με ένα βήμα αναρρόφησης. Τα σωληνάρια κατόπιν πλένονται με 2 ml διαλύματος πλύσης και αναρροφούνται. Παριστάνεται γραφικά μια καμπύλη βαθμονόμησης και προσδιορίζονται οι συγκεντρώσεις hPL των δειγμάτων με αναγωγή συγκεντρώσεων από την καμπύλη βαθμονόμησης.

V. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Αντιδραστήρια	Κιτ 96 προδιορι- σμών	Χρωμα- τικός κωδικός	Ανασύσταση			
 Σωληνάρια επιστρωμένα με αντι-hPL (μονοκλωνικά)	2 x 48	καφέ	Έτοιμο για χρήση			
<table><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> ΙΧΝΗΘΕΤΗΣ: hPL σημασμένο με ¹²⁵I (κατηγορίας HPLC) σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με βόεια ορολευκωματίνη, βενζαμιδίνη και αζίδιο (<0,1%)	Ag	¹²⁵ I	1 φιαλίδιο 10,5 ml 90 kBq	κόκκινο	Έτοιμο για χρήση	
Ag	¹²⁵ I					
<table><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Μηδενικός βαθμονομητής σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με βόεια ορολευκωματίνη και θυμόλη	CAL	0	1 φιαλίδιο λυοφιλοπο- ιημένο	κίτρινο	Προσθέστε 2 ml απεσταγμένου νερού	
CAL	0					
<table><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Βαθμονομητές - N = 1 έως 5 (δείτε τις ακριβείς τιμές στις ετικέτες των φιαλιδίων) σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με βόεια ορολευκωματίνη και θυμόλη	CAL	N	5 φιαλίδια λυοφιλοπο- ιημένο	κίτρινο	Προσθέστε 0,5 ml απεσταγμένου νερού	
CAL	N					
<table><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Διάλυμα πλύσης (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 φιαλίδιο 10 ml	καφέ	Αραιώστε 70 x με απεσταγμένο νερό (χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα).
WASH	SOLN	CONC				
<table><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Οροί ελέγχου - N = 1 ή 2 σε ανθρώπινο ορό με θυμόλη	CONTROL	N	2 φιαλίδια λυοφιλοπο- ιημένο	ασημί	Προσθέστε 0,5 ml απεσταγμένου νερού	
CONTROL	N					

Σημείωση: Χρησιμοποιείτε το μηδενικό βαθμονομητή για αραιώσεις ορών.
1 µg του παρασκευάσματος του βαθμονομητή είναι ισοδύναμο με 1 mIU NIBSC IRP 73/545.

VI. ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- Τα ακόλουθα υλικά απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται στο κιτ:
- Απεσταγμένο νερό
 - Πιπέτες για διανομή: 25 µl, 100 µl, 500 µl και 2 ml (συνιστάται η χρήση πιπετών ακριβείας με αναλώσιμα πλαστικά ρύγχη)
 - Αναμείκτης στροβιλισμού
 - Μαγνητικός αναδευτήρας
 - 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 0,5 ml απεσταγμένου νερού.
- B. Οροί ελέγχου:** Ανασυστήστε τους ορούς ελέγχου με 0,5 ml απεσταγμένου νερού.
- Γ. Διάλυμα πλύσης εργασίας:** Προετοιμάστε επαρκή όγκο διαλύματος πλύσης εργασίας με προσθήκη 69 όγκων απεσταγμένου νερού σε 1 όγκο διαλύματος πλύσης (70x). Χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα για την ομογενοποίηση. Απορρίψτε το μη χρησιμοποιημένο διάλυμα πλύσης εργασίας στο τέλος της ημέρας.

VIII. ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΛΗΞΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

- Πριν από το άνοιγμα ή την ανασύσταση, όλα τα συστατικά του κιτ παραμένουν σταθερά έως την ημερομηνία λήξης, η οποία αναγράφεται στην ετικέτα, εφόσον διατηρούνται σε θερμοκρασία 2 έως 8° C.
- Μετά την ανασύσταση, οι βαθμονομητές και οι οροί ελέγχου παραμένουν σταθεροί επί 7 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

- Τα δείγματα ορού ή πλάσματος πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2-8° C.
- Εάν η εξέταση δεν πραγματοποιηθεί εντός 24 ωρών, συνιστάται η φύλαξη στους -20° C.
- Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.
- Ο ορός ή το πλάσμα (με ηπαρίνη ή EDTA) παρέχουν παρόμοια αποτελέσματα.
Y (ορός) = 1,03 x (πλάσμα με EDTA) - 0,0005 r = 0,98 n = 22
Y (ορός) = 0,89 x (ηπαρινισμένο πλάσμα) - 0,0135 r = 0,98 n = 21

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 25 µl από έκαστο στα αντίστοιχα σωληνάρια.
- Διανείμετε 100 µl hPL σημασμένου με ¹²⁵I σε κάθε σωληνάριο, συμπεριλαμβάνοντας τα μη επιστρωμένα σωληνάρια που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ("total").
- Ανακινήστε απαλά με το χέρι τη βάση στήριξης των σωληναρίων για να απελευθερώσετε τυχόν παγιδευμένες φυσαλίδες αέρα.
- Επώαστε επί 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου.
- 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.
- Πλύνετε τα σωληνάρια με 2 ml διαλύματος πλύσης εργασίας (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵I ["total"]) και αναρροφήστε (ή μεταγγίστε). Αποφύγετε το σχηματισμό αφρού κατά τη διάρκεια της προσθήκης του διαλύματος πλύσης εργασίας.
- Αφήστε τα σωληνάρια να σταθούν σε όρθια θέση για δύο λεπτά και αναρροφήστε τη σταγόνα υγρού που απομένει.
- Μετρήστε τα σωληνάρια σε μετρητή γ ακτινοβολίας για 60 δευτερόλεπτα.

XI. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

- Υπολογίστε τη μέση τιμή των διπλών προσδιορισμών.
- Υπολογίστε τη δεσμευμένη ραδιενέργεια ως ποσοστό της δέσμευσης που προσδιορίζεται στο σημείο μηδενικού βαθμονομητή (0) σύμφωνα με τον ακόλουθο τύπο:

3. Με χρήση ημιλογαριθμικού χαρτιού γραφήματος ή χαρτιού γραφήματος logit-log 3 κύκλων, παρastiστήτε γραφικά τις τιμές ($B/B_0(\%)$) για κάθε σημείο βαθμονομητή ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του hPL για κάθε σημείο βαθμονομησης. Απορρίψτε τις εμφανείς μη αποδεκτές τιμές.
4. Για την κατασκευή της καμπύλης βαθμονόμησης είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν επίσης μέθοδοι με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή. Εάν χρησιμοποιείται αυτόματη επεξεργασία αποτελεσμάτων, συνιστάται προσαρμογή καμπύλης λογιστικής συνάρτησης 4 παραμέτρων.
5. Με αναγωγή των τιμών των δειγμάτων ($B/B_0(\%)$), προσδιορίστε τις συγκεντρώσεις hPL των δειγμάτων από την καμπύλη βαθμονόμησης.
6. Για κάθε προσδιορισμό, πρέπει να ελέγχεται το ποσοστό του συνολικού ιχνηθέτη που δεσμεύεται εν τη απουσία μη σημασμένου hPL (B_0/T).

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

hPL		cpm	B/Bo (%)
Κρούσεις του ιχνηθέτη ^{125}I ("total")		27305	
Βαθμονομητής	0.0 µg/ml	13935	100,0
	0.35 µg/ml	11471	82,3
	0.73 µg/ml	9704	69,6
	1.35 µg/ml	7019	50,4
	3.8 µg/ml	3889	27,9
	11.8 µg/ml	1682	12,1

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

Ορμόνη	Καμία σημαντική επίδραση έως
LH	40000 mIU/ml
FSH	60000 mIU/ml
TSH	200 mIU/ml
hCG	300000 mIU/ml
PRL	50000 ng/ml
hGH	2500 ng/ml

Ορός	N	<X> ± T.A. (μg/ml)	Σ.Α. (%)	Ορός	N	<X> ± T.A. (μg/ml)	Σ.Α. (%)
A	10	1,65 ± 0,06	3,6	A	20	1,78 ± 0,10	5,7
B	10	4,72 ± 0,09	2,0	B	20	4,83 ± 0,34	6,9

Τ.Α.: Τυπική απόκλιση, Σ.Δ.: Συντελεστής διακύμανσης

Δείγμα	Αραίωση	Θεωρητική συγκέντρωση (µg/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (µg/ml)
A	1/1	-	9,9
	1/2	5,0	5,0
	1/4	2,5	2,9
	1/8	1,2	1,4
	1/16	0,6	0,6
	1/32	0,3	0,3
B	1/1	-	9,9
	1/2	5,0	6,0
	1/4	2,5	2,9
	1/8	1,2	1,4
	1/16	0,6	0,7
	1/32	0,3	0,3

Δείγμα	Προσταθέν hPL (μg/ml)	Ανακτηθέν hPL (μg/ml)	Ανακτηθέν (%)
1	0,6	0,6	101
	1,25	1,19	96
	2,5	2,67	107
	5	4,95	99
	10	8,56	86
2	1,25	1,19	95
	2,5	2,46	98
	5	4,72	94

Όπως φαίνεται στη συνέχεια, τα αποτελέσματα του προσδιορισμού παραμένουν αξιόπιστα ακόμα και όταν διανέμεται ένα δείγμα 60 λεπτά μετά την προσθήκη του βαθμονομητή στα επιστρωμένα σωληνάρια.

Ορός μg/ml	0'	15'	30'	45'	60'
C 1	1,6	1,8	1,8	1,9	1,9
C 2	4,7	5	5,1	5,1	5,2

- 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.

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

Κύηση τρίμηνο	N	Πεδίο τιμών συγκέντρωσης (µg/ml)	Αριθμός ατόμων
1ο τρίμηνο	23	0,7	0,4 – 2,3
2ο τρίμηνο	30	2,3	0,8 – 5,7
3ο τρίμηνο	29	5,7	1,1 – 9,5

Το πεδίο τιμών εκφράζεται ως ποσοστά επί τοις εκατό 2,5 % και 97,5 %

Ασφάλειας
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 υπόκεινται στη νομοθεσία της χώρας του τελικού χρήστη. Σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να χορηγείται το προϊόν σε ανθρώπους ή ζώα.
Όλος ο χειρισμός του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να εκτελείται σε καθορισμένο χώρο, μακριά από χώρους τακτικής διέλευσης. Στο εργαστήριο πρέπει να διατηρείται ημερολόγιο για την παραλαβή και τη φύλαξη ραδιενεργών υλικών. Εξοπλισμός και γυάλινα σκεύη του εργαστηρίου, τα οποία θα μπορούσαν να μολυνθούν με ραδιενεργές ουσίες, θα πρέπει να φυλάσσονται σε ξεχωριστό χώρο για την πρόληψη επιμόλυνσης των διαφόρων ραδιοισότοπων.
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 κιτ 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 κιτ αυτό ενδέχεται να αντιδράσει με μόλυβδο και χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων και να σχηματίσει με τον τρόπο αυτό ιδιαίτερα εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Κατά τη διάρκεια του βήματος πλύσης, εκπλύνετε την αποχέτευση με μεγάλη ποσότητα νερού, για την πρόληψη τυχόν συσσώρευσης αζιδίου.

Μην καπνίζετε, μην πίνετε, μην τρώτε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά στο χώρο εργασίας. Μην διανέμετε με πιπέτα χρησιμοποιώντας το στόμα **σας**. *Χρησιμοποιείτε προστατευτικό ρουχισμό και γάντια μιας χρήσης.*

XVII. BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1.

CHARD, T.
Placental lactogen : biology and clinical applications, In :
GRUNDINSKAS JG, TEISNER B, SEPPALA M. (1981)
Eds Pregnancy proteins: Biology, Chemistry, and clinical Applications
New Yoric : Academic Press, 101-118.

2.

CHOSIGNANI, P.G. and al. (1974)
Value of hCG and hCS measurements in clinical practice.
Obstetrics and Gynecology 44, 673-81.

3.

GRANT, M. and al. (1977)
Further investigation on the predictive value of human placental lactogen in high risk pregnancies.
Am. J. Obstet. Gynecol. 129,647.

4.

HARRIGAN, J.T. and al. (1976)
Predictive value of human placental lactogen determination in pregnancy.
Obstetrics and Gynecology, 47, 443-445.

5.

ISQUARD, G. (1981)
A comparison of serum measurements of unconjugated oestriol, total oestriol, human placental lactogen and pregnancy-specific \$ glycoprotein in the assessment of fetal well-being.
Australian Journal of Medical Laboratory Sciences, 2, 85-89.

6.

SPELLACY, W.N. and al. (1974)
Distribution of human placental lactogen in the last half of normal and complicated pregnancies.
Am. J. Obstet. Gynecol. 120, 214-223.

XVIII. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

	ΚΡΟΥΣΕΙ Σ "TOTAL" μl	ΒΑΘΜΟΝΟ- ΜΗΤΕΣ μl	ΔΕΙΓΜΑ(ΤΑ) ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ μl
Βαθμονομητές (0 έως 5) Δείγματα, οροί ελέγχου Ιχνηθέτης	- - 100	25 - 100	- 25 100
Επώαση	1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου		
Διαχωρισμός Διάλυμα πλύσης εργασίας Διαχωρισμός	-	Αναρρόφηση (ή μετάγγιση) 2,0 ml Αναρρόφηση (ή μετάγγιση)	
Μέτρηση	Μέτρηση σωληναρίων επί 60 δευτερόλεπτα		

Αρ. καταλόγου DIASource: KIP1149	Αριθμός P.I.: 1700470/el	Αρ. αναθεώρησης: 090422/1
-------------------------------------	-----------------------------	------------------------------

ημερομηνία αναθεώρησης : 2009-04-22

Használat előtt olvassa el a teljes használati utasítást.

hPL-RIA-CT

I. VIZSGÁLAT CÉLJA

Radioimmun vizsgálat emberi placentáris laktogén (hPL) *in vitro* mennyiségi meghatározására vérsavóban és plazmában.

II. ÁLTALÁNOS INFORMÁCIÓK

- A. **Bejegyzett név:** DIASource hPL-RIA-CT Reagenskészlet
- B. **Katalógusszám:** KIP1149 : 96 vizsgálat
- C. **Gyártó :** DIASource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

Gyakorlati jellegű vagy rendeléssel kapcsolatos kérdésekkel hívja a következő számot:

Tel : +32 (0)67 88.99.99

Fax : +32 (0)67 88.99.96

III. KLINIKAI HÁTTÉR

A. Placentáris laktogén

Az emberi placentáris laktogén (hPL) egy két azonos tömegű (19.000) polipeptid láncból felépülő dimer fehérje, ami laktogén, luteotróp és növekedést serkentő aktivitással rendelkezik. A hPL-t az egészséges méhlepény trophoblast sejtei, vagy trophoblast tumor sejtek termelik. A molekula aminosav-összetétele a hGH-éhoz, kisebb mértékben pedig a prolaktinéhoz hasonló. A hPL a terhesség 6. hetétől mutatható ki a vérből, szintje ezután a placentáris szövet növekedésével együtt folyamatosan emelkedik a terhesség ideje alatt, amíg a 34. héten koncentrációja eléri a 2-10 µg/ml-t és itt állandósul. Mivel a hPL féléletideje a vérben rövid (± 20 perc), mennyisége a szülés után 4 órával a kimutathatóság határa alá csökken.

B. A hPL-RIA klinikai felhasználása

- **A méhlepény működésének vizsgálata a terhesség alatt**
A hPL-RIA az egyik legfontosabb biokémiai módszer a méhlepény működésének ellenőrzésére a terhesség utolsó trimesztere során, a vérben mérhető hPL-szint prognosztikus értékű olyan nők esetében is, akiknél vaginális vérzés lép fel az első trimeszter ideje alatt.
- **Üszöktérhesség és magzatburok tumor diagnosztizálása**
A vér hPL és hCG koncentrációjának egyidejű meghatározása (hPL/hCG arány) segítséget nyújt az üszöktérhesség diagnózisának felállításában. Az együtt megfigyelhető magas hCG-, és alacsony hPL-szint üszöktérhességre vagy magzatburok tumorra utal.

IV. A MÓDSZER ELVE

Ismert mennyiségű ¹²⁵I-dal jelölt hPL verseng a mintában vagy a kalibrátorban található hPL-nel a polisztrén csövek falához rögzített ismert mennyiségű ellenanyag kötőhelyeiért. A rögzített ellenanyag rendkívül specifikus, ezért nincs szükség sem kivonásra, sem pedig kromatográfiára. Egy óra szobahőmérsékleten végzett inkubálás után a folyadékot el kell távolítani. Ekkor a kompetitív reakció leáll. A csöveket ezután át kell mosni 2 ml hígított mosóoldattal, majd a folyadékot ismét el kell távolítani. A kalibrátorok segítségével felrajzolható egy kalibrációs görbe, amiről a minták hPL-koncentrációi interpolációval olvashatók le.

V. A REAGENSKÉSZLET TARTALMA

Reagens	Mennyiség 96 mintához	Szín	Feloldás			
 Anti-hPL borított csövek (monoklonális ellenanyag)	2 x 48	barna	Használatra kész			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRACER: ¹²⁵ I-dal jelölt hPL (HPLC tisztaságú) bovin szérum albumint, benzamidint és azidot (<0.1%) tartalmazó foszfát pufferben	Ag	¹²⁵ I	1 ampulla 10,5 ml 90 kBq	piros	Használatra kész	
Ag	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Nulla kalibrátor bovin szérum albumint, és thymolt tartalmazó foszfát pufferben	CAL	0	1 ampulla liofilizált	sárga	Adjon hozzá 2 ml desztillált vizet	
CAL	0					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> kalibrátorok - N = 1 - 5 (a pontos értékeket l. az ampullák címkéin) bovin szérum albumint, és thymolt tartalmazó foszfát pufferben	CAL	N	5 ampulla liofilizált	sárga	Adjon hozzá 0.5 ml desztillált vizet	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Mosóoldat (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 ampulla 10 ml	barna	Hígítsa 70 x desztillált vízzel (használjon mágneses keverőt).
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Kontrollok - N = 1 vagy 2 thymolt tartalmazó emberi vérsavó	CONTROL	N	2 ampulla liofilizált	ezüst	Adjon hozzá 0,5 ml desztillált vizet	
CONTROL	N					

Megjegyzés : Minták hígításához használja a nulla kalibrátort
1 µg kalibrátor az NIBSC IRP 73/545 nemzetközi standard
1 µIU-jának felel meg

VI. A FELHASZNÁLÓ ÁLTAL BIZTOSÍTOTT ESZKÖZÖK

A következő eszközöket a készlet nem tartalmazza, de szükségesek a vizsgálat elvégzéséhez:

- Desztillált víz
- Pipetták: 25 µl, 100 µl, 500 µl és 2 ml beméréséhez (ajánlott pontos pipetták és eldobható műanyag pipettahegyek használata)
- Vortex
- Mágneses keverő
- 5 ml automata fecskendő (Cornwall) a mosáshoz
- Vízlégszivattyú (választható)
- Bármely, ¹²⁵I mérésére alkalmas gamma-sugárzásmérő (minimális hozam 70%).

VII. REAGENSEK ELŐKÉSZÍTÉSE

- Kalibrátorok:** Oldja fel a nulla kalibrátort 2 ml, a többi kalibrátort pedig 0.5 ml desztillált vízben.
- Kontrollok:** Oldja fel a kontrollokat 0.5 ml desztillált vízben.
- Hígított mosóoldat:** Készítsen megfelelő mennyiségű hígított mosóoldatot úgy, hogy 69 rész desztillált vízhez 1 rész mosóoldatot (70x) kever. Homogenizálja mágneses keverő segítségével. A napi vizsgálatok végeztével öntse ki a megmaradt hígított mosóoldatot.

VIII. A REAGENSEK TÁROLÁSA ÉS ELTARTHATÓSÁGA

- Felnyitás és feloldás nélkül a reagensek 2-8°C-on tárolva a címkén feltüntetett időpontig eltarthatók.

- Feloldás után a kalibrátorok és kontrollok 2-8°C-on egy hétig, több csőbe szétosztva -20°C-on lefagyaszthatva legfeljebb 3 hónapig eltarthatók. Kerülje a többszöri lefagyasztást és felolvasztást.
- A frissen készült hígított mosóoldatot még aznap fel kell használni.
- Amennyiben felnyitás után a tracert az eredeti, jól lezárt ampullában 2-8°C-on tárolja, akkor a címkén feltüntetett időpontig eltartható.
- A reagensek fizikai tulajdonságainak megváltozása valószínűleg azt jelzi, hogy megromlottak.

IX. MINTAVÉTEL ÉS ELŐKÉSZÍTÉS

- Tárolja a vérsavó vagy vérplazma mintákat 2-8°C-on.
- Amennyiben nem végzi el a vizsgálatot 24 órán belül, ajánlott a mintákat -20°C-on szétosztva tárolni.
- Kerülje a minták többszöri lefagyasztását és felolvasztását.
- Vérsavó vagy plazma (heparinos vagy EDTA-s) hasonló eredményt ad:
Y (savó) = 1.03 x (EDTA-s plazma) – 0.0005 r = 0.98 n = 22
Y (savó) = 0.89x (heparinos plazma) – 0.0135 r = 0.98 n = 21

X. ELJÁRÁS

A. Tudnivalók
Ne használja a reagenseket a lejáratí idejükön túl. Ne keverjen össze eltérő gyártási számú reagenskészletekből származó anyagokat. Használat előtt várja meg, amíg a reagensek szobahőmérsékletre melegednek. Óvatosan moztatással vagy keveréssel alaposan homogenizálja a reagenseket. Minden reagens és minta beméréséhez használjon tiszta eldobható pipettahegyet, hogy elkerülje az anyagok beszenyeződését. Nagypontosságú pipetták, vagy automata pipettázó készülék használata javítja a vizsgálat pontosságát. Tartsa be a megadott inkubációs időket. Minden vizsgálatához készítsen új kalibrációs görbét, ne használja korábbi mérések adatait.

B. A vizsgálat menete

- Feliratozzon 2-2 csövet a kalibrátorok, a minták és a kontrollok számára. A teljes radioaktivitás méréséhez használjon 2 reagens nélküli csövet (totálok).
- Rövid vortexelés után mérjen 25 µl-t a kalibrátorokból, kontrollokból és mintákból a megfelelő csövekbe.
- Mérjen 100 µl tracert minden csőbe (a totálókba is).
- Kézzel óvatosan rázza meg a kémcsőállványt, hogy a csövekben maradt levegőbuborékok eltávozzanak.
- Inkubálja a csöveket szobahőmérsékleten 1 órán át.
- Szívja le (vagy öntse le) a csövek tartalmát (kivéve a totálok). Ügyeljen, hogy a vízlégszivattyú műanyag hegye leérjen a csövek aljáig, és így az összes folyadékot eltávolítsa.
- Mossa a csöveket 2 ml hígított mosóoldattal (kivéve a totálokat), majd távolítsa el a folyadékot. Vigyázzon, hogy a mosóoldat beméréskor ne habosodjon.
- Hagyja állni a csöveket 2 percig, majd távolítsa el a megmaradt folyadékceppet.
- Mérje a radioaktivitást gamma-sugárzásmérővel 60 másodpercig.

XI. EREDMÉNYEK KISZÁMÍTÁSA

- Számolja ki a párhuzamos mérések átlagát.
- Számítsa ki a megkötött radioaktivitás százalékos értékét a nulla kalibrátorra kapott eredmény felhasználásával az alábbi képlet alapján:

B/B0 % = [kontroll vagy minta cpm / B0 (nulla kalibrátor) cpm] x 100

- Féllogaritmikus vagy logit-log milliméterpapíron ábrázolja a kalibrátorok B/B0(%) értékeit a hozzájuk tartozó hPL-koncentrációk függvényében. Hagyja figyelmen kívül a nyilvánvalóan kieső értékeket.
- Számítógép segítségével is felrajzolható a kalibrációs görbe. Ez esetben használjon 4-paraméteres logisztikus görbeillesztést.
- A kalibrációs görbe alapján határozza meg a minták hPL-koncentrációját B/B0(%) értékeik interpolációjával.
- Minden vizsgálat során határozza meg a jelöletlen hPL nélkül bekötődő tracer százalékos mennyiségét (B0/T).

XII. JELLEMZŐ MÉRÉSI EREDMÉNYEK

A következő adatok csak példaként szolgálnak, soha ne használja őket a valós idejű kalibráció helyett.

hPL-RIA-CT	cpm	B/Bo (%)
Teljes radioaktivitás	27305	

Kalibrátor	0.0 µg/ml	13935	100.0
	0.35 µg/ml	11471	82.3
	0.73 µg/ml	9704	69.6
	1.35 µg/ml	7019	50.4
	3.8 µg/ml	3889	27.9
	11.8 µg/ml	1682	12.1

XIII. A VIZSGÁLAT JELLEMZŐI ÉS KORLÁTAI

A. A kimutathatóság alsó határa
Húszero kalibrátort vizsgáltak meg más kalibrátorokkal együtt.
A kimutathatóság alsó határa 0,1 µg/ml-nek bizonyult, ami a nulla kalibrátor cpm értékeinek átlagából számolható ki a standard deviáció kétszeresének levonásával.

B. Specifititás

Hormon	Nincs szignifikáns interferencia az alábbi koncentrációig
LH	40000 mIU/ml
FSH	60000 mIU/ml
TSH	200 mIU/ml
hCG	300000 mIU/ml
PRL	50000 ng/ml
hGH	2500 ng/ml

C. Reprodukálhatóság

VIZSGÁLATON BELÜLI				VIZSGÁLATOK KÖZÖTTI			
Savó	N	<X> ± SD (µg/ml)	CV (%)	Savó	N	<X> ± SD (µg/ml)	CV (%)
A	10	1.65 ± 0.06	3.6	A	20	1.78 ± 0.10	5.7
B	10	4.72 ± 0.09	2.0	B	20	4.83 ± 0.34	6.9

SD: standard deviáció; CV: variációs koefficiens

D. Pontosság

HÍGÍTÁSI VIZSGÁLAT			
Minta	Hígítás	Elméleti koncentráció (µg/ml)	Mért koncentráció (µg/ml)
A	1/1	-	9.9
	1/2	5.0	5.0
	1/4	2.5	2.9
	1/8	1.2	1.4
	1/16	0.6	0.6
	1/32	0.3	0.3
B	1/1	-	9.9
	1/2	5.0	6.0
	1/4	2.5	2.9
	1/8	1.2	1.4
	1/16	0.6	0.7
	1/32	0.3	0.3

A minták hígítása a nulla kalibrátorral történt.

VISSZANYERÉS			
Minta	Hozzáadott hPL (µg/ml)	Visszanyert hPL (µg/ml)	Visszanyerés (%)
1	0.6	0.6	101
	1.25	1.19	96
	2.5	2.67	107
	5	4.95	99
	10	8.56	86
2	1.25	1.19	95
	2.5	2.46	98
	5	4.72	94

E. Az utolsó kalibrátor és a minták bemérése között eltelt idő

Ahogy ezt az alábbi adatok is mutatják, a vizsgálat eredményeit nem befolyásolja, ha egy minta bemérése akár 60 perccel az utolsó kalibrátor után történik.

ELTELT IDŐ					
Vérsavó (µg/ml)	0'	15'	30'	45'	60'
C 1	1.6	1.8	1.8	1.9	1.9
C 2	4.7	5	5.1	5.1	5.2

XIV. BELSŐ MINŐSÉGELENŐRZÉS

- Ha a kontroll 1-re és 2-re kapott eredmények kívül esnek az ampullák címkéin feltüntetett tartományon, a vizsgálat eredményei nem használhatók fel, kivéve, ha ismert az eltérés pontos oka.
- Igény esetén bármely laboratórium készíthet egy saját, kontrollként szolgáló savó-poolt, amit azután szétoosztva, lefagyasztva kell tárolni.
- A párhuzamos vizsgálatok eredményei közötti eltérés elfogadható mértékét a GLP (Good Laboratory Practises) alapján kell meghatározni.

XV. REFERENCIATARTOMÁNY

Az alábbi értékek csak irányadó jellegűek, minden laboratóriumnak meg kell határoznia saját referenciatartományát.

Vizsgált csoport	N	Medián (µg/ml)	Tartomány (µg/ml)
1. trimeszter	23	0.7	0.4 – 2.3
2. trimeszter	30	2.3	0.8 – 5.7
3. Trimeszter	29	5.7	1.1 – 9.5

Az referenciatartomány a 2,5%-os és a 97,5%-os percentilis értékek közé esik.

XVI. MUNKAÉVELEM

Biztonsági előírások

Csak in vitro diagnosztikai felhasználásra.
A kit röntgen (28 keV) és gamma (35.5 keV) sugárzó ¹²⁵I izotópot (felezési idő: 60 nap) tartalmaz.
A reagenskészletben található radioaktív anyagot csak arra jogosult személyek vehetik át és használhatják fel. Radioaktív termékek beszerzésére, tárolására, használatára, és cseréjére az adott ország törvényei érvényesek. A reagens alkalmazása embereken és állatokon is minden körülmények között tilos.
Minden, radioaktív reagenssel végzett műveletet egy arra kijelölt, elkülönített helyen kell elvégezni. A laboratóriumba érkezett radioaktív anyagok átvételéről és tárolásáról vezetett jegyzőkönyvet a laboratórium területén kell tartani. Azokat a laboratóriumi eszközöket és üvegedényeket, amelyek radioaktív anyaggal szennyeződhetnek, különítse el, hogy elkerülje a különböző radioizotópokkal történő keresztszennyeződést.
Amennyiben bármilyen radioaktív anyag kiömlik, azonnal takarítsa fel az erre vonatkozó előírásoknak megfelelő módon. A keletkező radioaktív hulladékot a helyi szabályoknak és az illetékes hatóságok erre vonatkozó útmutatásának megfelelően kell kidobni. Ha betartja a radioaktív anyagok kezelésére vonatkozó alapvető szabályokat, megfelelően védett lesz a sugárfertőzéstől.

A készlet emberi vérből készült reagenseit európai szabványok szerinti és/vagy az FDA által minősített módszerrel HBsAg-tól, valamint anti-HCV, és anti-HIV-1 és 2 ellenanyagoktól mentesnek találták. Azonban egyetlen ma ismert módszer alapján sem állítható biztosan, hogy az emberi vérből készült anyagok nem okozhatnak hepatitist, AIDS-et vagy más fertőző betegséget. Ezért minden ilyen reagenst és minden savó-, illetve plazmamintát a fertőző anyagokra vonatkozó helyi biztonsági előírásoknak megfelelően kell kezelni.
Minden állati eredetű reagens és termék egészséges állatokból származik. A szarvasmarha eredetű reagens olyan országokból származnak, ahonnan eddig nem jelentettek BSE esetet. Ennek ellenére minden állati eredetű anyagot tartalmazó reagenst potenciálisan fertőzésveszélyesként kell kezelni.
Vigyázzon, hogy a reagens bőrre ne kerüljenek (tartósítószer: nátrium-azid). A reagensekben található nátrium-azid robbanásveszélyes fém-azidokat képezhet ólom és réz csővezetékek anyagával. A csövek mosásakor nagy mennyiségű vízzel együtt öntse ki ezeket az anyagokat, hogy megelőzze az azid felgyülemlését.
Ne dohányozzon, ne fogyasszon ételt vagy italt, illetve ne használjon kozmetikumokat a laboratóriumban. Ne pipettázzon szájjal. Munka közben viseljen laborköpenyt és egyszer használatos kesztyűt.

XVII. IRODALOM

1. CHARD, T.
Placental lactogen : biology and clinical applications, In :

GRUNDINSKAS JG, TEISNER B, SEPPALA M. (1981)
Eds Pregnancy proteins: Biology, Chemistry, and clinical Applications
 New York : Academic Press, 101-118.

2. CHOSIGNANI, P.G. and al. (1974)
Value of hCG and hCS measurements in clinical practice.
 Obstetrics and Gynecology 44, 673-81.
3. GRANT, M. and al. (1977)
Further investigation on the predictive value of human placental lactogen in high risk pregnancies.
 Am. J. Obstet. Gynecol. 129,647.
4. HARRIGAN, J.T. and al. (1976)
Predictive value of human placental lactogen determination in pregnancy.
 Obstetrics and Gynecology, 47, 443-445.
5. ISQUARD, G. (1981)
A comparison of serum measurements of unconjugated oestriol, total oestriol, human placental lactogen and pregnancy-specific \$ glycoprotein in the assessment of fetal well-being.
 Australian Journal of Medical Laboratory Sciences, 2, 85-89.
6. SPELLACY, W.N. and al. (1974)
Distribution of human placental lactogen in the last half of normal and complicated pregnancies.
 Am. J. Obstet. Gynecol. 120, 214-223.

XVIII. AZ ELJÁRÁS ÖSSZEFOGLALÁSA

	Totállok µl	Kalibrátorok µl	Minták, kontrollok µl
Kalibrátorok (0-5) Minták, kontrollok Tracer	- - 100	25 - 100	- 25 100
Inkubáció	1 óra szobahőmérsékleten		
Folyadék eltávolítása Hígított mosóoldat Folyadék eltávolítása	-	Szívja ki (vagy öntse le) 2.0 ml Szívja ki (vagy öntse le)	
Mérés	Radioaktivitás mérése 60 másodpercig		

DIAsource Katalógusszám : KIP1149	P.I. Szám : 1700470/hu	Verziószám : 090422/1
--------------------------------------	---------------------------	--------------------------

Frissítés időpontja: 2009-04-22

Przed zastosowaniem należy przeczytać cały protokół.

hPL-RIA-CT

I. PRZEZNACZENIE

Oznaczenie radioimmunologiczne do ilościowego pomiaru in vitro ludzkiego laktogenu łożyskowego (hPL) w ludzkiej surowicy i osoczu.

II. INFORMACJE OGÓLNE

- A. **Nazwa firmowa:** DIASource hPL-RIA-CT
- B. **Numer katalogowy:** KIP1149 : 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

A. Aktywność biologiczna

Ludzkie białko laktogenu łożyskowego (hPL) jest dimerem dwóch łańcuchów polipeptydowych o tej samej masie cząsteczkowej (19.000) przejawiającym właściwości laktogenne, luteotropowe i będącym czynnikiem wzrostu. hPL, wytwarzany przez komórki trofoblastu prawidłowego łożyska lub przez tkankę nowotworową pochodzącą z trofoblastu ma podobny skład aminokwasowy do hGH i w mniejszym stopniu do prolaktyny. hPL staje się wykrywalny w surowicy od około szóstego tygodnia ciąży w późniejszym okresie poziomy hPL zwiększają się stopniowo w czasie ciąży osiągając wartości szczytowe 2 - 10 µg/ml w 34 tygodniu odzwierciedlając bezpośrednio wzrost tkanki łożyskowej. Z uwagi na krótki okres półtrwania ($\pm$ 20 minut), hPL staje się niewykrywalny w surowicy w 4 godziny po porodzie.

B. Zastosowanie kliniczne

Ocena czynności łożyska w czasie ciąży.

hPL-RIA jest jedną z głównych metod biochemicznych służących do monitorowania czynności łożyska w ostatnim trymestrze ciąży; pomiar poziomów hPL w surowicy jest wykorzystywany również jako parametr prognostyczny w przypadkach krwawienia z pochwy w pierwszym trymestrze ciąży.

Rozpoznawanie zaśnięcia i nowotworu kosmówki

Pomiar hPL w surowicy pomaga w rozpoznawaniu ciąży zaśniadowej jeżeli jest stosowany razem z oznaczeniem poziomu hCG (określenie stosunku hCG/hPL). Wysokie wartości hCG w skojarzeniu z niskimi wartościami hPL sugerują występowanie ciąży zaśniadowej lub kosmówczaka.

IV. ZAGADNIENIA DOTYCZĄCE METODY

W celu pomiaru substancji obecnej w próbce lub w kalibratorze, odpowiednia ilość cząsteczek IGF-I oznakowanych ¹²⁵I współzawodniczy z IGF-I o określoną ilość miejsc na przeciwciałach unieruchomionych na ścianie probówki polistyrenowej. Ze względu na wysoką swoistość opłaszczonych przeciwciał nie jest wymagane zastosowanie ani ekstrakcji, ani chromatografii. Po godzinnej inkubacji, przebiegającej w temperaturze pokojowej reakcja współzawodnictwa jest przerywana przez aspirację. Następnie próbki są płukane przy pomocy 2 ml roztworu płuczącego i aspirowane. Wykreślana jest krzywa kalibracyjna a stężenia hPL w próbkach są określane na podstawie nałożenia dawki na krzywą kalibracyjną.

V. ODCZYNNIKI DOSTARCZONE

Odczynniki	Zestaw 96 oznaczeń	Kolor	Rekonstytucja			
 Probówki opłaszczone anty-hPL (monoclonal antibodies)	2 x 48	brązowy	Gotowe do zastosowania.			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> ZNACZNIK IZOTOPOWY: IGF-I oznakowany jodem ¹²⁵ (poziom HPLC) w buforze fosforanowym z albuminą z surowicy bydlęcej, benzamidyną i azydkiem (<0,1%).	Ag	¹²⁵ I	1 fiolka 10,5 ml 90 kBq	czerwony	Gotowy do zastosowania.	
Ag	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Kalibrator zerowy w buforze fosforanowym z albuminą z surowicy bydlęcej i tymolem.	CAL	0	1 fiolka materiał liofilizowa ny	żółty	Dodać 2 ml wody destylowanej	
CAL	0					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibratory - N = od 1 do 5 (dokładne wartości na etykietach fiolek) w buforze fosforanowym z albuminą z surowicy bydlęcej i tymolem.	CAL	N	5 fiolek materiał liofilizowa ny	żółty	Dodać 0,5 ml wody destylowanej	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Roztwór płuczący (TRIS HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 fiolka 10 ml	brązowy	Rozcieńczyć 70x wodą destylowaną (wykorzystać mieszkadło magnetyczne).
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Kontrola - N = od 1 do 2 w surowicy ludzkiej z tymolem	CONTROL	N	2 fiołki materiał liofilizowa ny	srebrny	Dodać 0,5 ml wody destylowanej	
CONTROL	N					

Uwaga: Do rozcieńczania próbek używać kalibrator zerowy.
1 µg przygotowanego kalibratora jest równoważny 1 µIU pierwszego IRP 73/545 - NIBSC.

VI. MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE

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

- Woda destylowana
- Pipety do dozowania: 25 µl, 100 µl, 500 µl i 2 ml (zaleca się korzystanie z dokładnych pipet z jednorazowymi końcówkami plastikowymi)
- Mieszkadło wirowe
- Mieszkadło magnetyczne
- Strzykawka automatyczna o objętości 5 ml (rodzaj Cornwall) do płukania
- Układ do aspiracji (opcjonalnie)
- Może być wykorzystywany jakikolwiek licznik gamma odpowiedni do pomiaru ¹²⁵I (minimalny uzysk 70%)

VII. PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

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

VIII. PRZECHOWYWANIE I DATA WAŻNOŚCI ODCZYNNIKÓW

- Przed otwarciem lub rekonstytucją wszystkie składniki zestawu zachowują trwałość do daty ważności przedstawionej na etykiecie, jeżeli są przechowywane w temperaturze od 2 do 8°C.
- Po rekonstytucji, kalibratory i kontrole zachowują trwałość przez 1 tydzień, pod warunkiem przechowywania w temperaturze od 2 do 8°C.
- Świeżo przygotowany roboczy roztwór płuczający powinien być wykorzystany w tym samym dniu.
- Po jego pierwszym zastosowaniu, znacznik izotopowy zachowuje trwałość do podanej daty ważności jeżeli jest przechowywany w oryginalnej, dobrze zamkniętej fiołce w temperaturze od 2 do 8°C.
- Zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników w zestawie mogą wskazywać na ich niestabilność lub zużycie.

IX. POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE MATERIAŁU DO BADANIA

- Próbki surowicy lub osocza muszą być przechowywane w temperaturze 2-8°C.
- Jeżeli oznaczenie nie jest wykonywane w ciągu 24 godzin, zaleca się przechowywanie w temperaturze -20°C.
- Unikać powtarzanych cykli zamrażania-odmrażania.
- Surowica lub osocze (heparinizowane lub z zawartością EDTA) prowadzą do podobnych wyników.
Y (surowica) = 1,03 x (osocze z EDTA) - 0,0005 r = 0,98 n = 22
Y (surowica) = 0,89x (osocze heparinizowane) - 0,0135 r = 0.98 n = 21

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 końcówki jednorazowe 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

- Dla każdego kalibratora, próbki i kontrole należy oznaczyć opłaszczone próbki w badaniach podwójnych. W celu określenia całkowitych zliczeń należy oznaczyć 2 standardowe próbki.
- Szybko wymieszać wirując: kalibratory, próbki i kontrole, i dozować po 25 µl każdej substancji do odpowiednich probówek.
- Do każdej próbki, w tym do probówek nieopłaszczonych do całkowitego zliczania, dodać po 100 µl hPL oznakowanego jodem¹²⁵.
- Delikatnie potrząsać statywem w celu uwolnienia uwięzionych pęcherzyków powietrza.
- Inkubować przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej.
- Aspirować (lub odlać) zawartość każdej próbki (z wyjątkiem probówek do całkowitego zliczania). Aby usunąć cały płyn należy upewnić się, że plastikowa końcówka aspiratora osiągnęła dno opłaszczonej próbki.
- Przepłukać próbki przy pomocy 2 ml roboczego roztworu płuczącego (z wyjątkiem probówek do całkowitego zliczania) i aspirować zawartość (lub odlać ją). W trakcie dodawania roboczego roztworu płuczącego należy unikać wytwarzania piany.
- Pozostawić próbki w pozycji stojącej do góry na dwie minuty i aspirować pozostałe krople płynu.
- Zliczać próbki w liczniku gamma przez 60 sekund.

XI. OBLICZANIE WYNIKÓW

- Obliczć średnią oznaczeń podwójnych.
- Obliczć związaną radioaktywność jako odsetek wiązania określonego w zerowym punkcie kalibracji (0) zgodnie z poniższym wzorem:

$$B/B_0(\%) = \frac{\text{Liczba zliczeń (dla kalibratora lub próbki)}}{\text{Liczba zliczeń (dla kalibratora zerowego)}} \times 100$$

- Na 3 arkuszach półlogarytmicznych lub papierze milimetrowym wykreślić wartości (B/B₀(%)) dla każdego punktu kalibratora jako funkcję stężenia hPL każdego punktu kalibratora. Odrzucić oczywiste wartości graniczne.

4. Do opracowania krzywej kalibracyjnej mogą być wykorzystane również metody wspomagania komputerowego. Jeżeli ma być zastosowane automatyczne przetwarzanie wyników, zaleca się dopasowanie krzywej logistycznej 4 parametrowej.
5. Nakładając wartości (B/B0 (%)) próbki należy określić stężenia hPL w próbkach z krzywej kalibracyjnej.
6. Dla każdego oznaczenia należy sprawdzić odsetek całkowitego związanego znacznika izotopowego przy braku nieoznakowanego hPL (B0/T).

XII. PRZYKŁAD DANYCH TYPOWYCH

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

hPL		cpm	B/Bo (%)
Zliczanie całkowite		27305	
Kalibrator	0,0 µg/ml	13935	100.0
	0,35 µg/ml	11471	82.3
	0,73 µg/ml	9704	69.6
	1,35 µg/ml	7019	50.4
	3,8 µg/ml	3889	27.9
	11,8 µg/ml	1682	12.1

XIII. DZIAŁANIE I OGRANICZENIA

A. Granica wykrywania

Dwadzieścia kalibratorów zerowych oznaczano wraz z zestawem innych kalibratorów.

Granica wykrywania, zdefiniowana jako odmienne stężenie dwóch odchyień standardowych poniżej przeciętnej wartości zliczania przy wiązaniu zerowym kształtowała się na poziomie 0,1 µg/ml.

B. Swoistość

Hormon	Bez znaczącej interferencji do poziomu
LH	40000 mIU/ml
FSH	60000 mIU/ml
TSH	200 mIU/ml
hCG	300000 mIU/ml
PRL	50000 ng/ml
hGH	2500 ng/ml

C. Precyzja

PRECYZJA W SERII				PRECYZJA MIĘDZY SERIAMI			
Surowica	N	<X> ± SD (µg/ml)	CV (%)	Surowica	N	<X> ± SD (µg/ml)	CV (%)
A	10	1,65 ± 0,06	3,6	A	20	1,78 ± 0,10	5,7
B	10	4,72 ± 0,09	2,0	B	20	4,83 ± 0,34	6,9

SD: Odchylenie standardowe; CV: Współczynnik zmienności

D. Dokładność

BADANIE ROZCIEŃCZENIA			
Próbka	Rozcieńczenie	Stęż. teoretyczne (µg/ml)	Stęż. zmierzone (µg/ml)
A	1/1	-	9,9
	1/2	5,0	5,0
	1/4	2,5	2,9
	1/8	1,2	1,4
	1/16	0,6	0,6
	1/32	0,3	0,3
B	1/1	-	9,9
	1/2	5,0	6,0
	1/4	2,5	2,9
	1/8	1,2	1,4
	1/16	0,6	0,7
	1/32	0,3	0,3

Próbki zostały rozcieńczone przy pomocy kalibrator zerowy.

BADANIE ODZYSKU			
Próbka	dodano hPL (µg/ml)	Odzyskany hPL (np/ml)	Odzysk (%)
1	0,6	0,6	101
	1,25	1,19	96
	2,5	2,67	107
	5	4,95	99
	10	8,56	86
2	1,25	1,19	95
	2,5	2,46	98
	5	4,72	94

E. Opóźnienie pomiędzy oznaczeniem ostatniego kalibratora i dozowaniem próbki

Jak wykazano, wyniki pomiaru pozostają dokładne nawet wówczas, gdy od momentu dodania kalibratora do opłaszczonych probówek minęło 60 minut.

OPÓŹNIENIE		
	0' (µg/ml)	30' (µg/ml)
S1	21,6	23,1
S2	60,2	56,1

XIV. WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI

- Jeżeli wyniki uzyskane dla kontroli 1 i 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.
- Dopuszczalne kryteria dotyczące różnicy pomiędzy wynikami oznaczeń podwójnych próbek powinny być zgodne z zasadami prawidłowej pracy w laboratorium.

XV. ZAKRESY REFERENCYJNE

Wartości są przedstawione wyłącznie w celach orientacyjnych, każde laboratorium powinno opracować własne wartości referencyjne.

Trymestr ciąży	N	Mediana (µg/ml)	Zakres (µg/ml)
Pierwszy trymestr	23	0.7	0.4 – 2.3
Drugi trymestr	30	2.3	0.8 – 5.7
Trzeci trymestr	29	5.7	1.1 – 9.5

Zakres jest oparty na percentylach od 2,5% do 97,5%.

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 bydłęce 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.

CHARD, T.
Placental lactogen : biology and clinical applications, In :
GRUNDINSKAS JG, TEISNER B, SEPPALA M. (1981)
Eds Pregnancy proteins: Biology, Chemistry, and clinical Applications
New Yoric : Academic Press, 101-118.

2.

CHOSIGNANI, P.G. and al. (1974)
Value of hCG and hCS measurements in clinical practice.
Obstetrics and Gynecology 44, 673-81.

3.

GRANT, M. and al. (1977)
Further investigation on the predictive value of human placental lactogen in high risk pregnancies.
Am. J. Obstet. Gynecol. 129,647.

4.

HARRIGAN, J.T. and al. (1976)
Predictive value of human placental lactogen determination in pregnancy.
Obstetrics and Gynecology, 47, 443-445.

5.

ISQUARD, G. (1981)
A comparison of serum measurements of unconjugated oestriol, total oestriol, human placental lactogen and pregnancy-specific \$ glycoprotein in the assessment of fetal well-being.
Australian Journal of Medical Laboratory Sciences, 2, 85-89.

6.

SPELLACY, W.N. and al. (1974)
Distribution of human placental lactogen in the last half of normal and complicated pregnancies.
Am. J. Obstet. Gynecol. 120, 214-223.

XVIII. PODSUMOWANIE PROTOKOŁU

	CALKOWIT A LICZBA ZLICZEŃ µl	KALIBRATORY µl	PRÓBK I KONTROLE µl
<u>INKUBACJA</u> Kalibratory (0 - 5) Próbki, kontrole Znacznik izotopowy	- - 100	25 - 100	- 25 100
Inkubacja	1 godzina w temperaturze pokojowej		
Rozdzielenie Roboczy roztwór płuczący Rozdzielenie	- - -	Aspiracja (lub odlewanie) 2,0 ml Aspiracja (lub odlewanie)	
Zliczanie	Zliczanie probówek przez 60 sekund		

Nr katalogowy DIAsource KIP1149	Numer P.I. 1700470/pl	Nr aktualizacji : 090422/1
------------------------------------	--------------------------	-------------------------------

	<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 Conjuugaat	HRP Konjugat
	HRP Conjuugaat	HRP Konjugat
	HRP Conjuugaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	HRP Conjuugaat geconcentreerd	HRP Konjugat Konzentrat
	Conjuugaat buffer	Konjugatpuffer
	Chromogene TMB geconcentreerd	Chromogenes TMB Konzentrat
	Chromogene Oplossing TMB	Farblösung TMB
	Substraatbuffer	Substratpuffer
	Stopoplossing	Stopplösung
	Incubatieserum	Inkubationsserum
	Buffer	Puffer
	AP Conjuugaat	AP Konjugat
	Substraat PNPP	Substrat PNPP
	Geconcentreerd Biotine conjuugaat	Biotin-Konjugat-Konzentrat
	Geconcentreerd Avidine-HRP conjuugaat	Avidin-HRP-Konzentrat
	Assay buffer	Assaypuffer
	Biotine conjuugaat	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	Stopplösning
	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
	mikro płytki	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
LOT	Партиден код
REF	Каталожен номер
CONTROL	Контрол
IVD	Ин витро диагностично медицинско изделие
	Производител
	Съдържание достатъчно за <n> теста
WASH SOLN CONC	Концентриран измиващ разтвор
CAL 0	Нулев калибратор
CAL N	Калибратор #
CONTROL N	Контрол #
Ag 125I	Трейсър
Ab 125I	Трейсър
Ag 125I CONC	Концентриран маркер
Ab 125I CONC	Концентриран маркер
	Епруветки
INC BUF	Инкубационен буфер
ACETONITRILE	Ацетонитрил
SERUM	Серум
DIL SPE	Разредител за пробите
DIL BUF	Буфер за разреждане
ANTISERUM	Антисерум
IMMUNOABSORBENT	Имуноабсорбент
DIL CAL	Разредител за калибратора
REC SOLN	Пресъздаващ разтвор
PEG	Полиетилен гликол
EXTR SOLN	Екстрактов разтвор
ELU SOLN	Разтвор за елюиране
GEL	Силикагелни пълнители
PRE SOLN	Пред-лечебен разтвор
NEUTR SOLN	Неутрализиращ разтвор
TRACEUR BUF	Маркерен буфер
	Микротитърна пластина
Ab HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ag HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ab HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
Ag HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
CONJ BUF	Буфер за конюгата
CHROM TMB CONC	Хромогенен ТМВ концентрат
CHROM TMB	Хромогенен ТМВ разтвор
SUB BUF	Субстратен буфер
STOP SOLN	Стоп разтвор
INC SER	Инкубационен серум
BUF	Буфер
Ab AP	AP конюгат / конюгат на алкална фосфатаза
SUB PNPP	Субстрат PNPP / пара нитрофенил фосфат
BIOT CONJ CONC	Биотин конюгиран концентрат
AVID HRP CONC	Авидин HRP концентрат
ASS BUF	Буфер за пробите
Ab BIOT	Биотин конюгат
Ab	специфично антитяло
SAV HRP CONC	стрептавидин HRP концентрат
NSB	не специфично свързване
2nd Ab	второ антитяло
ACID BUF	киселинизиращ буфер