



PROG-RIA-CT

KIP1458

Read entire protocol before use.

PROG-RIA-CT

I. INTENDED USE

Radioimmunoassay for the *in vitro* quantitative measurement of human Progesterone (PROG) in serum.

II. GENERAL INFORMATION

- A. **Proprietary name :** DIAsource PROG-RIA-CT Kit
- B. **Catalog number :** KIP1458 : 96 tests
- C. **Manufactured by :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

For technical assistance or ordering information contact :
Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.91

III. CLINICAL BACKGROUND

A. Biological Activity

Progesterone is a C-21 steroid hormone (molecular weight: 314.5) which is synthesized from cholesterol via pregnenolone in the granulosa and theca cells of the corpus luteum under the influence of LH. The major production sites are ovary and placenta and somewhat the adrenal cortex in both men and women. Progesterone is rapidly metabolized in the liver. Blood levels are very low during the follicular phase whereas one does observe a sharply increase during the luteal phase of menstrual cycles reaching a maximum some 5 to 10 days after the midcycle LH peak.

B. Clinical applications

Serum progesterone levels, which are low during the follicular phase, increase during the luteal phase of menstrual cycle. Unless pregnancy occurs, the progesterone level declines 4 days before the next menstrual period. Thus, the measurement of progesterone levels constitutes a well-established method for detection of ovulation. But there are many cases where the progesterone measurements are also of interest:

- To check the effectiveness of ovulation induction;
- To monitor the embryo transfer and progesterone replacement therapy;
- To detect the patients at risk for abortion during the beginning of pregnancy;
- To aid in the diagnostic of ectopic pregnancy;
- To detect all ovarian tumor (benign and malign) in postmenopausal women;
- To diagnose luteinized unruptured follicle by the dosage of 17 beta-estradiol and progesterone levels in peritoneal fluid;
- The steroid profiles of follicular fluids and the ratio of E2/PROG allow detecting a normal or a dysfunctional ovulation induction. (The empty follicular syndrome may reflect a dysfunctional ovulation induction).

IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

A fixed amount of ¹²⁵I labelled steroid competes with the steroid 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. After 2 hours incubation at 37°C in a water bath, an aspiration step terminates the competition reaction. The tubes are then washed with 3 ml of wash solution and aspirated again. A calibration curve is plotted and the Progesterone 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 PROG	2 x 48	silver	Ready for use			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRACER: ¹²⁵ Iodine labelled PROG (HPLC grade) in acetate buffer with bovine casein and azide (<0.1%)	Ag	¹²⁵ I	1 vial 55 ml 220 kBq	red	Ready for use	
Ag	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Zero Calibrator in human serum and azide (0.5%)	CAL	0	1 vial 1 ml	yellow	Ready for use	
CAL	0					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibrators - N = 1 to 6 (see exact values on vial labels) in human serum and azide (0.5%)	CAL	N	6 vials 0.5 ml	yellow	Ready for use	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Wash solution (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 vial 10 ml	brown	Dilute 70 x with distilled water (use a magnetic stirrer).
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controls - N = 1 or 2 in human serum with thymol	CONTROL	N	2 vials lyophilised	silver	Add 0.5 ml distilled water	
CONTROL	N					

Note : Use the zero calibrator for sera dilutions.

VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

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

- 1. Distilled water
- 2. Pipettes for delivery of: 50 µl and 500 µl (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
- 3. Vortex mixer
- 4. Magnetic stirrer
- 5. Water bath at 37° ± 2°C
- 6. 5 ml automatic syringe (Cornwall type) for washing
- 7. Aspiration system (optional)
- 8. Any gamma counter capable of measuring ¹²⁵I may be used (minimal yield 70%).

VII. REAGENT PREPARATION

- A. **Controls:** Reconstitute the controls with 0.5 ml distilled water.
- B. **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, 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 samples must be kept at 2-8°C.
- If the test is not run within 48 hrs, storage at -20°C is recommended.
- Avoid subsequent freeze-thaw cycles.

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. **Special attention should be taken to ensure that the Tracer is at room temperature.** 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**
 1. Label coated tubes in duplicate for each calibrator, control and sample. For the determination of total counts, label 2 normal tubes
 2. Briefly vortex calibrators, controls and samples and dispense 50µl of each into the respective tubes.
 3. Dispense 500 µl of ¹²⁵Iodine labelled PROG into each tube, including the uncoated tubes for total counts.
 4. Shake the tube rack gently by hand to liberate any trapped air bubbles.
 5. Incubate for 2 hours at 37°C in a water bath.
 6. Aspirate 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.
 7. Wash tubes with 3 ml Working Wash solution (except total counts) and aspirate. Avoid foaming during the addition of the Working Wash solution.
 8. Let the tubes stand upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
 9. Count tubes in a gamma counter for 60 seconds.

XI. CALCULATION OF RESULTS

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

B/B0 (%) = $\frac{\text{Counts (Calibrator or sample)}}{\text{Counts (Zero Calibrator)}} \times 100$

3. 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 PROG concentration of each calibrator point. Reject obvious outliers.
4. 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.
5. By interpolation of the sample (B/B0 (%)) values, determine the PROG concentrations of the samples from the calibration curve.
6. For each assay, the percentage of total tracer bound in the absence of unlabelled PROG (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.

PROG		cpm	B/Bo (%)
Total count		86718	
Calibrator	0.00 ng/ml	33822	100.0
	0.12 ng/ml	30680	90.7
	0.90 ng/ml	21353	63.1
	3.00 ng/ml	13831	40.9
	7.90 ng/ml	7899	23.4
	15.00 ng/ml	4849	14.3
	36.00 ng/ml	2180	6.5

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 0.05 ng/ml.

B. Specificity

The percentage of cross-reaction estimated by comparison of the concentration yielding a 50% inhibition are respectively:

Compound	Cross-Reactivity (%)
20-α-Dihydroprogesterone	0.03
20-β-Dihydroprogesterone	3.27
5-α-Pregnan-3,20 dione	3.46
17-α-Hydroxyprogesterone	1.50
Pregnenolone	0.39
Cortisol	0.003
21-Deoxycortisol	0.01
11-Deoxycortisol	0.01
Corticosterone	0.30
11-Deoxycorticosterone	0.83
Androstenedione	0.12
Testosterone	0.03
Estradiol	< 0.0012
Danazol	< 0.0012
DHEA	0.02
DHEA-SO4	0.005

Note: this table shows the cross-reactivity for the anti PROG

The effect of potential interfering substances on samples using the DIAsource PROG-RIA-CT test was evaluated. Different levels of Haemoglobin, Bilirubin, Triglyceride, and Bilirubin Conjugate were tested on samples with different PROG concentrations. Our acceptance criteria was to have interference of less than 10%. The tested substances did not affect the performance of the DIAsource PROG-RIA-CT test.

Substance	PROG (ng/mL)	Concentration of Interferent (mg/dL)	Mean % Variation
Haemoglobin	1.05	250	-6%
		500	
	2.46	250	
		500	
Bilirubin Unconjugated	1.05	50	-9.2%
		100	
	2.46	50	
		100	
Bilirubin Conjugated	1.05	50	1.5%
		100	
	2.46	50	
		100	
Triglyceride	1.07	5	6.7%
		10	
		20	
		40	
	3.32	5	
		10	
		20	
		40	

C. Precision

INTRA-ASSAY PRECISION				INTER-ASSAY PRECISION			
Serum	N	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)
A	20	1.27 ± 0.07	5.2	A	11	1.17 ± 0.10	8.6
B	20	4.08 ± 0.16	4.0	B	11	3.93 ± 0.26	6.5

SD: Standard Deviation; CV: Coefficient of variation

D. Accuracy

DILUTION TEST			
Sample	Dilution	Theoretical Concent. (ng/ml)	Measured Concent. (ng/ml)
A	1/1	-	33.86
	1/2	16.93	17.16
	1/4	8.47	8.20
	1/8	4.23	3.88
	1/16	2.12	1.96
	1/32	1.06	1.11
	1/64	0.53	0.57

Sample was diluted with zero calibrator.

RECOVERY TEST			
Added PROG (ng/ml)	Measured PROG concentrations Total (ng/ml)	Blanked (ng/ml)	Recovery (%)
0	2.01	-	-
22.23	23.96	21.95	98.7%
8.14	10.60	8.59	105.5%
2.68	4.77	2.76	103.0%
0.86	3.05	1.04	120.9%
0.31	2.30	0.29	93.5%

Conversion factor :

From ng/ml to nmol/L : x 3.18
From nmol/L to ng/ml : x 0.314

The concentrations of the calibrator are traceable to an internal reference preparation.

E. Time delay between last calibrator and sample dispensing

As shown hereafter, assay results remain accurate even when a sample is dispensed 20 minutes after the calibrator has been added to coated tubes.

Serum ng/ml	0'	10'	20'
1	1.5	1.5	1.5
2	9.4	10.8	9.3
3	20.6	20.3	20.4
4	1.2	0.9	1.0

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.

	Concentration range (ng/ml)	Number of subjects
Males	0.60 – 2.11	50
Females		
. Follicular phase	0.70 – 1.78	34
. Ovulatory phase	0.79 – 3.95	29
. Luteal phase	4.57 – 17.56	39
. Menopause	0.43 – 2.13	50

(*) 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. ALPER M. et al (1987)
Comparison of follicular fluid hormones in patients with one or two ovaries participating in a program of in vitro fertilization.
Fertil. and Steril. 48, 1, 94-97
2. GIDLEY-BAIRD A. et al. (1986)
Failure of implantation in human in vitro fertilization and embryo transfer patients : the effects of altered progesterone/estrogen ratios in humans and mice.
Fertil. Steril. 45, 1, 69-74.
3. HEINONEN P. et al (1985)
Elevated progesterone levels in serum and ovarian venous blood in patients with ovarian tumors.
Acta Obstet.Gynecol. Scand. 64, 649-652.
4. JANSSEN-CASPER H. et al (1986)
Diagnosis of luteinized unruptured follicle by ultrasound and steroid hormone assays in peritoneal fluid : a comparative study.
Fertil. Steril.,46, 5, 823-827.
5. KO-ENHUANG et al. (1986)
Serum progesterone levels in women treated with human menopausal gonadotropin and human chorionic gonadotropin for in vitro fertilization.
Fertility and Sterility, 46, 5, 903-906.
6. KRUITWAGEN R. et al (1987)
Oestradiol-17b and progesterone level changes in peritoneal fluid around the time of ovulation.
British Journal of Obstetrics and Gynecology, 94, 548-553.
7. MATTHEWS C. (1986)
Serum progesterone levels as an aid in the diagnosis of ectopic pregnancy.
Obstetrics and Gynecology, 68, 390-394.
8. OSKOWITZ S. et al (1986)
Luteal phase serum progesterone levels after follicle aspiration with and without clomiphene citrate treatment.
Fertil. Steril., 46, 3, 461-465.

XVIII. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	TOTAL COUNTS µl	CALIBRATORS µl	SAMPLE (S) CONTROLS µl
Calibrators (0 to 6)	-	50	-
Samples, Controls	-	-	50
Tracer	500	500	500
Incubation	2 hours at 37°C in a water bath		
Separation Working Wash solution Separation	-	Aspirate 3.0 ml Aspirate	
Counting	Count tubes for 60 seconds		

DIAsource Catalogue Nr : KIP1458	P.I. Number : 1700637/en	Revision nr : 140617/2
-------------------------------------	-----------------------------	---------------------------

Revision date: 2014-06-17

Lire entièrement le protocole avant utilisation.

PROG-RIA-CT

I. BUT DU DOSAGE

Trousse de dosage radio-immunologique pour la mesure quantitative *in vitro* de la Progestérone (PROG) dans le sérum humain.

II. INFORMATIONS GENERALES

- A. **Nom du produit :** DIAsource PROG-RIA-CT Kit
- B. **Numéro de catalogue:** KIP1458 : 96 tests
- C. **Fabriqué par :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgique.

Pour une assistance technique ou une information sur une commande :

Tel : +32 (0)10 84.99.11

Fax : +32 (0)10 84.99.91

III. CONTEXTE CLINIQUE

A. Activités biologiques

La Progestérone est une hormone stéroïde en C21 (poids moléculaire: 314,5) qui est synthétisée à partir du cholestérol via la pregnénolone dans les cellules granuleuses et de thèque du corps jaune sous l'influence de la LH. Les lieux de production principaux sont les ovaires et le placenta et dans une moindre mesure le cortex surrénal pour les deux sexes. La Progestérone est métabolisée rapidement dans le foie. Les taux dans le sang sont très bas lors de la phase folliculaire, tandis qu'il y a une augmentation importante lors de la phase lutéale des cycles menstruels qui atteint son maximum 5 à 10 jours après le pic de LH en milieu de cycle.

B. Applications cliniques

Les taux en progestérone dans le sérum, qui sont bas lors de la phase folliculaire, augmentent lors de la phase lutéale du cycle menstruel. Sauf en cas de grossesse, le taux en progestérone diminue 4 jours avant la période menstruelle suivante. Ainsi, la mesure des taux en progestérone constitue une bonne méthode pour la détection de l'ovulation. D'autres cas dans lesquels la mesure de la progestérone est intéressante sont :

- Vérifier l'efficacité d'une induction d'ovulation;
- Observer le transfert de l'embryon et la thérapie de remplacement de la progestérone;
- Détecter les patients aptes à l'avortement au début de la grossesse;
- Faciliter le diagnostic d'une grossesse ectopique;
- Détecter toutes les tumeurs ovariennes (bénignes et malignes) chez les femmes post-ménopausiques;
- Diagnostic du follicule lutéinisé non rompu par le dosage des taux en 17 beta-estradiol et de la progestérone dans le fluide péritonéal;
- Les profils stéroïdes des fluides folliculaires et le ratio de la E2/PROG permettent de détecter une induction d'ovulation normale ou déficiente. (Le syndrome du follicule vide peut indiquer une induction d'ovulation déficiente).

IV. PRINCIPE DU DOSAGE

Une quantité fixe de PROG marquée à l’¹²⁵I est en compétition avec la PROG 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. Après 2 heures d’incubation à 37°C dans un bain-marie, le liquide est aspiré pour terminer la réaction de compétition. Les tubes sont lavés avec 3 ml de Solution de Lavage et aspirés à nouveau. Une courbe de calibration est réalisée et la concentration en PROG 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 PROG	2 x 48	Gris	Prêt à l'emploi
Ag ¹²⁵I TRACEUR: PROG marquée à l'¹²⁵Iodine (grade HPLC) dans un tampon acétate avec de la caséine bovine, EDTA et de l'azide (<0,1%)	1 flacon 55 ml 220 kBq	Rouge	Prêt à l'emploi
CAL 0 Calibrateur zéro dans du sérum humain et de l'azide de sodium (0,5%)	1 flacon 1 ml	Jaune	Prêt à l'emploi
CAL N Calibrateurs PROG - N = 1 à 6 (cfr. valeurs exactes sur chaque flacon) dans du sérum humain et de l'azide de sodium (0,5%)	6 flacons 0,5 ml	Jaune	Prêt à l'emploi
WASH SOLN CONC Solution de lavage (TRIS-HCl)	1 flacon 10 ml	Brun	Diluer 70x avec de l'eau distillée (utiliser un agitateur magnétique).
CONTROL N Contrôles - N = 1 ou 2 dans du sérum humain et du thymol	2 flacons lyophilisés	Gris	Ajouter 0,5 ml d'eau distillée

Note : Utiliser le calibrateur zéro pour la dilution des échantillons

VI. MATERIEL NON FOURNI

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

- 1. Eau distillée
- 2. Pipettes pour distribuer: 50 µl et 500 µl (l’utilisation de pipettes précises et de pointes jetables en plastique est recommandée)
- 3. Agitateur vortex
- 4. Agitateur magnétique
- 5. Bain-marie à 37°C ± 2°C
- 6. Seringue automatique de 5 ml (type Cornwall) pour les lavages
- 7. Système d’aspiration
- 8. Tout compteur gamma capable de mesurer l’¹²⁵I peut être utilisé (rendement minimum 70%).

VII. PREPARATION DES REACTIFS

- A. Contrôles : Reconstituer les contrôles avec 0,5 ml d’eau distillée.
- B. 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 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 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.

X. MODE OPERATOIRE

- A. Notes de manipulation
Ne pas utiliser la trousse ou ses composants après avoir dépassé la date d’expiration. Ne pas mélanger du matériel provenant de trousses de lots différents. Mettre tous les réactifs à température ambiante avant utilisation. Le traceur doit être à température ambiante. 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.

- B. Mode opératoire
1. Identifier les tubes recouverts fournis dans la trousse en double pour chaque calibrateur, échantillon, contrôle. Pour la détermination de l’activité totale, identifier 2 tubes non recouverts.
- 2. Agiter au vortex brièvement les calibrateurs, les échantillons et les contrôles. Puis distribuer 50 µl de chacun d’eux dans leurs tubes respectifs.
- 3. Distribuer 0,5 ml de PROG marquée à l’¹²⁵Iodine dans chaque tube, y compris les tubes sans anticorps pour la détermination de l’activité totale.
- 4. Agiter gentiment le portoir de tube pour libérer toute bulle d’air emprisonnée.
- 5. Incuber pendant 2 heures à 37°C dans un bain-marie.
- 6. 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.
- 7. Laver les tubes avec 3 ml de Solution de Lavage (à l’exception des tubes utilisés pour la détermination de l’activité totale) et aspirer. Eviter la formation de mousse pendant l’addition de la Solution de Lavage.
- 8. Laisser les tubes droits pendant 2 minutes et aspirer le reste de liquide.
- 9. Placer les tubes dans un compteur gamma pendant 60 secondes pour quantifier la radioactivité.

XI. CALCUL DES RESULTATS

- 1. Calculer la moyenne de chaque détermination réalisée en double.
- 2. 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 :

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

- 3. 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 PROG, 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 PROG à partir de la courbe de calibration.
- 6. Pour chaque essai, le pourcentage total de traceur lié en absence de PROG 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.

PROG		cpm	B/Bo (%)
Activité totale		86718	
Calibrateur	0,00 ng/ml	33822	100,0
	0,12 ng/ml	30680	90,7
	0,90 ng/ml	21353	63,1
	3,00 ng/ml	13831	40,9
	7,90 ng/ml	7899	23,4
	15,00 ng/ml	4849	14,3
	36,00 ng/ml	2180	6,5

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 0,05 ng/ml.

B. Spécificité

Le pourcentage de réaction croisée estimé par la comparaison de la concentration (indiquant une inhibition de 50 %) est respectivement :

Composé	Réactivité Croisée (%)
20-α-Dihydroprogesterone	0,03
20-β-Dihydroprogesterone	3,27
5-α-Pregnan-3,20 dione	3,46
17-α-Hydroxyprogesterone	1,50
Pregnenolone	0,39
Cortisol	0,003
21-Déoxycortisol	0,01
11-Déoxycortisol	0,01
Corticostérone	0,30
11-Déoxycorticostérone	0,83
Androsténedione	0,12
Testostérone	0,03
Estradiol	< 0,0012
Danazol	< 0,0012
DHEA	0,02
DHEA-SO4	0,005

Note: ce tableau montre la réactivité croisée pour l’anti-PROG

L’effet d’interférence potentielle de substances sur des échantillons utilisant le test DIASource PROG-RIA-CT a été évalué. Différents niveaux d’Haemoglobine, Bilirubine, Triglycéride et Bilirubine conjuguée ont été testés sur des échantillons avec diverses concentrations PROG. Notre critère d’acceptation était d’obtenir une interférence inférieure à 10 %. Les substances testées n’ont pas affecté la performance du test DIASource PROG-RIA-CT.

Substance	PROG (ng/mL)	Concentration d’interférence (mg/dL)	% de variation moyenne
Haemoglobine	1,05	250	-6 %
		500	
	2,46	250	
		500	
Bilirubine non conjuguée	1,05	50	-9,2 %
		100	
	2,46	100	
Bilirubine conjuguée	1,05	50	1,5 %
		100	
	2,46	50	
		100	
Triglycéride	1,07	5	6,7 %
		10	
		20	
		40	
	3,32	5	
		10	
		20	
		40	

C. Précision

INTRA-ESSAI				INTER-ESSAI			
Sérum	N	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)	Sérum	N	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)
A	20	1,27 ± 0,07	5,2	A	11	1,17 ± 0,10	8,6
B	20	4,08 ± 0,16	4,0	B	11	3,93 ± 0,26	6,5

SD : Déviation Standard; CV: Coefficient de variation

D. Exactitude

TEST DE DILUTION			
Echantillon Sérum	Dilution	Concent. Théorique (ng/ml)	Concent. Mesurée (ng/ml)
A	1/1	-	33,86
	1/2	16,93	17,16
	1/4	8,47	8,20
	1/8	4,23	3,88
	1/16	2,12	1,96
	1/32	1,06	1,11
	1/64	0,53	0,57

L’échantillon a été dilué avec le Calibrateur zéro.

TEST DE RECUPERATION			
PROG ajouté (ng/ml)	Concentrations PROG mesurées Total (ng/ml)	Total moins mesure masquée (ng/ml)	Récupération (%)
0	2,01	-	-
22,23	23,96	21,95	98,7 %
8,14	10,60	8,59	105,5 %
2,68	4,77	2,76	103,0 %
0,86	3,05	1,04	120,9 %
0,31	2,30	0,29	93,5 %

Facteur de conversion :

De ng/ml à nmol/L : x 3,18
De nmol/L à ng/ml : x 0,314

La traçabilité des concentrations du calibrateur se fait grâce à une préparation de référence interne.

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 40 minutes après que le calibrateur ait été ajouté aux tubes avec l’anticorps.

DELA			
Serum ng/ml	0'	10'	20'
1	1,5	1,5	1,5
2	9,4	10,8	9,3
3	20,6	20,3	20,4
4	1,2	0,9	1,0

XIV. CONTRÔLE 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 duplicata des échantillons doivent être basés sur les pratiques de laboratoire courantes.

XIV. VALEURS ATTENDUES

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

	Portée de la concentration (ng/ml)	Nombre de sujets
Hommes	0,60 – 2,11	50
Femmes		
. Phase folliculaire	0,70 – 1,78	34
. Phase ovulatoire	0,79 – 3,95	29
. Phase lutéale	4,57 – 17,56	39
. Ménopause	0,43 – 2,13	50

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

XV. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

Sécurité

Pour utilisation en diagnostic *in vitro* uniquement.

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

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

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

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

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

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

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

XVII. BIBLIOGRAPHIE

- ALPER M. et al (1987)
Comparison of follicular fluid hormones in patients with one or two ovaries participating in a program of in vitro fertilization.
Fertil. and Steril. 48, 1, 94-97
- GIDLEY-BAIRD A. et al. (1986)
Failure of implantation in human in vitro fertilization and embryo transfer patients : the effects of altered progesterone/estrogen ratios in humans and mice.
Fertil. Steril. 45, 1, 69-74.
- HEINONEN P. et al (1985)
Elevated progesterone levels in serum and ovarian venous blood in patients with ovarian tumors.
Acta Obstet.Gynecol. Scand. 64, 649-652.
- JANSSEN-CASPERS H. et al (1986)
Diagnosis of luteinized unruptured follicle by ultrasound and steroid hormone assays in peritoneal fluid : a comparative study.
Fertil. Steril.,46, 5, 823-827.
- KO-ENHUANG et al. (1986)
Serum progesterone levels in women treated with human menopausal gonadotropin and human chorionic gonadotropin for in vitro fertilization.
Fertility and Sterility, 46, 5, 903-906.

- KRUITWAGEN R. et al (1987)
Oestradiol-17b and progesterone level changes in peritoneal fluid around the time of ovulation.
British Journal of Obstetrics and Gynecology, 94, 548-553.
- MATTHEWS C. (1986)
Serum progesterone levels as an aid in the diagnosis of ectopic pregnancy.
Obstetrics and Gynecology, 68, 390-394.
- OSKOWITZ S. et al (1986)
Luteal phase serum progesterone levels after follicle aspiration with and without clomiphene citrate treatment.
Fertil. Steril., 46, 3, 461-465.

XVIII. RESUME DU PROTOCOLE

	ACTIVITE TOTALE (µl)	CALIBRA- TEURS (µl)	ECHANTILLON(S) CONTROLES (µl)
Calibrateurs (0 à 6)	-	50	-
Echantillons, contrôles	-	-	50
Traceur	500	500	500
Incubation	2 heures à 37°C ± 2°C dans un bain-marie		
Séparation Solution de Lavage Séparation	-	Aspiration 3,0 ml aspiration	
Comptage (radioactivité)	Temps de comptage des tubes : 60 secondes		

Numéro de catalogue DIAsource: KIP1458	Numéro de P.I: 1700637/fr	Numéro de révision: 140617/1
--	------------------------------	---------------------------------

Date de revision : 2014-06-17

Vor Gebrauch des Kits lesen Sie bitte diese Packungsbeilage.

PROG-RIA-CT

I. VERWENDUNGSZWECK

Ein Radio-Immunoassay für die quantitative *in vitro* Bestimmung von humanem Progesteron (PROG) in Serum.

II. ALLGEMEINE INFORMATION

- A. **Handelsbezeichnung :** DIAsource PROG-RIA-CT Kit
- B. **Katalognummer :** KIP1458 : 96 tests
- C. **Hergestellt von:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgien.

Für technische Unterstützung oder Bestellungen wenden Sie sich bitte an:

Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.91

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

Progesteron ist ein C-21 Steroidhormon (Molekulargewicht: 314,5), das unter Einfluss des LH in den Granulosa- und Thekazellen des Corpus luteum über Pregnenolon aus Cholesterin synthetisiert wird. Die wichtigsten Produktionsstätten sind Eierstöcke und Plazenta und in geringerem Ausmaß die Nebennierenrinde bei Mann und Frau. Progesteron wird in der Leber rasch verstoffwechselt. Während der Follikelphase ist Progesteron nur in geringen Mengen nachweisbar, mit dem LH-Peak kommt es kurz vor der Ovulation zu einem leichten Progesteron-Anstieg, 5 - 10 Tage später bildet das Corpus luteum erhebliche Progesteronmengen.

B. Klinische Anwendungen

Der Progesteronspiegel im Serum, der in der Follikelphase niedrig ist, steigt während der Lutealphase des Menstruationszyklus an. Wenn keine Schwangerschaft eintritt, sinkt der Progesteronspiegel 4 Tage vor der nächsten Menstruation. Die Messung des Progesteronspiegels stellt daher eine bewährte Methode zur Feststellung der Ovulation dar. Aber es gibt viele Fälle, in denen die Progesteronmessung von Interesse ist:

- zur Kontrolle der Wirksamkeit einer Ovulationsinduktion;
- zur Überprüfung des Embryotransfers und der Progesteronersatztherapie;
- zur Feststellung des Risikos auf Fehlgeburt zu Beginn der Schwangerschaft einer Patientin;
- zur Unterstützung bei der Diagnose einer ektopischen Schwangerschaft;
- zur Feststellung von (gutartigen und bösartigen) Tumoren bei postmenopausalen Frauen;
- zur Diagnostizierung eines luteinisierten, nicht gesprungenen Follikels durch die Höhe der Werte von 17 β -Östradiol und Progesteron in Peritonealflüssigkeit;
- die Steroidprofile von Follikelflüssigkeit und das Verhältnis von E2/PROG ermöglichen die Feststellung einer normalen oder dysfunktionalen Ovulationsinduktion. (Das Syndrom des leeren Follikels kann auf eine dysfunktionale Ovulationsinduktion hinweisen).

IV. GRUNDSÄTZLICHES ZUR DURCHFÜHRUNG

Eine festgesetzte Menge an ¹²⁵I markiertem PROG konkurriert mit dem zu messenden, in der Probe oder in dem Kalibrator vorhandenen PROG um eine Menge an Antikörperbindungsstellen, die an der Wand des Polystyren Röhrchens fixiert sind. Der sind weder Extraktion noch Chromatographie erforderlich. Nach 2 Stunde Inkubation bei 37°C im Wasserbad, beendet das Absaugen die Verdrängungsreaktion. Die Röhrchen werden anschliessend mit Waschlösung gewaschen, danach wird nochmals abgesaugt. Eine Standardkurve wird gedruckt und die PROG-Konzentrationen der Proben werden über Dosis Interpolation der Kalibrationskurve bestimmt.

V. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenz	96 Test Kit	Farbcode	Rekonstitution			
 Mit anti PROG-beschichtete Röhrchen	2 x 48	silber	Gebrauchsfertig			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> Tracer : ¹²⁵ Iod markiertes PROG (HPLC grade) in Acetatpuffer mit Rinder-casein und Azid (<0,1%)	Ag	¹²⁵ I	1 Gefäß 55 ml 220 kBq	rot	Gebrauchsfertig	
Ag	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Null-Kalibrator: Humanserum und Azid (0,5%)	CAL	0	1 Gefäß 1 ml	gelb	Gebrauchsfertig	
CAL	0					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibratoren PROG : N = 1 bis 6 (genaue Werte auf Gefäß-Etiketten) in Humanserum und Azid (0,5%)	CAL	N	6 Gefäße 0,5 ml	gelb	Gebrauchsfertig	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Waschlösung (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 Gefäß 10 ml	braun	70x mit dest. Wasser (Magnetrührer verwenden) verdünnen .
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Kontrollen : N = 1 oder 2 in Humanserum und Thymol	CONTROL	N	2 Gefäße lyophilisiert	silber	0,5 ml dest. Wasser zugeben	
CONTROL	N					

Bemerkung : Benutzen Sie den Null-Kalibrator zur Probenverdünnung.

VI. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

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

- 1. Dest. Wasser
- 2. Pipetten: 50 µl und 500 µl (Verwendung von Präzisionspipetten mit Einwegpipettenspitzen wird empfohlen)
- 3. Vortexmixer
- 4. Magnetrührer
- 5. Wasserbad bei 37°C ± 2°C
- 6. 5 ml automatische Spritze (Cornwall-Typ) zum Waschen
- 7. Absaugsystem (optional)
- 8. Jeder Gamma-Counter, der ¹²⁵I messen kann, kann verwendet werden. Maximale Messeffizienz sollte gewährleistet sein.

VII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- A. **Kontrollen** : Rekonstituieren Sie die Kontrollen mit 0,5 ml dest. Wasser.
- B. **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

- Serumproben müssen bei 2-8 °C aufbewahrt werden.
- Falls der Test nicht innerhalb von 48 Std. durchgeführt wird, müssen die Porben bei -20°C aufgehoben werden.
- Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.

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. **Es ist besonders darauf zu achten, dass der Tracer Raumtemperatur hat.** 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**
 1. Beschriften Sie je 2 beschichtete Röhrchen für jeden Kalibrator, jede Probe und jede Kontrolle. Zur Bestimmung der Gesamtaktivität, beschriften Sie 2 normale Röhrchen.
 2. Vortexen Sie Kalibratoren, Proben und Kontrollen kurz und geben Sie 50 µl von jedem in ihre Röhrchen.
 3. Geben Sie 500 µl des ¹²⁵Iod markierten PROG in jedes Röhrchen, einschließlich der unbeschichteten Röhrchen für die Gesamtaktivität.
 4. Schütteln Sie vorsichtig die Halterung mit den Röhrchen um Blasen zu entfernen.
 5. Inkubieren Sie 2 Stunde bei 37°C im Wasserbad.
 6. Saugen Sie den Inhalt jedes Röhrchens ab (außer Gesamtaktivität). Vergewissern Sie sich, dass die Plastikspitze des Absaugers den Boden des beschichteten Röhrchens erreicht, um die gesamte Flüssigkeit zu entfernen.
 7. Waschen Sie die Röhrchen mit 3 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab. Vermeiden Sie Schaumbildung bei Zugabe der Waschlösung.
 8. Lassen Sie die Röhrchen 2 Minuten aufrecht stehen, und saugen Sie den verbleibenden Flüssigkeitstropfen ab.
 9. Werten Sie die Röhrchen in einem Gamma-Counter über 60 Sekunden aus.

XI. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

- 1. Berechnen Sie den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen.
- 2. Berechnen Sie die gebundene Radioaktivität als Prozentsatz des am Null-Kalibratorpunkt (0) bestimmten Wertes nach folgender Formel:
$$B/B0 (\%) = \frac{\text{Aktivität (Kalibrator oder Probe)}}{\text{Aktivität (Null-Kalibrator)}} \times 100$$
- 3. Verwenden Sie semi-logarithmisches oder doppelt-logarithmisches Millimeterpapier (über 3 Größenordnungen) drucken Sie die (B/B0(%)) Werte für jeden Kalibratorpunkt als Funktion der PROG-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 PROG-Konzentrationen der Proben über Interpolation der Probenwerte B/B0(%) der Referenzkurve.
- 6. Bei jedem Assay muss der Prozentsatz des gesamten gebundenen Tracers ohne unmarkiertes PROG (B0/T) geprüft werden.

XII. TYPISCHE WERTE

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

PROG	cpm	B/Bo (%)
Gesamtaktivität	86718	
Kalibrator	0,00 ng/ml	33822
	0,12 ng/ml	30680
	0,90 ng/ml	21353
	3,00 ng/ml	13831
	7,90 ng/ml	7899
	15,00 ng/ml	4849
	36,00 ng/ml	2180
		100,0
		90,7
		63,1
		40,9
		23,4
		14,3
		6,5

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 0,05 ng/ml.

B. Spezifität

Der Prozentsatz der Kreuzreaktion, der im Vergleich der Konzentration geschätzt wurde, welche eine 50%ige Inhibition ergibt, beträgt respektive:

Substanz	Kreuzreaktivität (%)
20-α-Dihydroprogesterone	0,03
20-β-Dihydroprogesterone	3,27
5-α-Pregnan-3,20 dione	3,46
17-α-Hydroxyprogesterone	1,50
Pregnonelone	0,39
Cortisol	0,003
21-Deoxycortisol	0,01
11-Deoxycortisol	0,01
Corticosterone	0,30
11-Deoxycorticosterone	0,83
Androstenedione	0,12
Testosterone	0,03
Estradiol	< 0,0012
Danazol	< 0,0012
DHEA	0,02
DHEA-SO4	0,005

Hinweis: Diese Tabelle zeigt die Kreuzreaktivität für das anti-PROG

Es wurde die Wirkung von potentiell interferierenden Substanzen für Proben mit dem DIAsource PROG-RIA-CT Test ausgewertet. Dabei wurden verschiedene Stufen von Hämoglobin, Bilirubin, Triglycerid und Bilirubin-Konjugat bei Proben mit unterschiedlichen PROG-Konzentrationen getestet. Unser Akzeptanzkriterium war eine Interferenz von weniger als 10 %. Die getesteten Substanzen hatten keinen Einfluss auf die Ergebnisse des DIAsource PROG-RIA-CT Tests.

Substanz	PROG (ng/mL)	Konzentration des Interferenten (mg/dL)	Mittlere Abweichung in %
Hämoglobin	1,05	250	-6 %
		500	
	2,46	250	
		500	
Bilirubin nicht konjugiert	1,05	50	-9,2 %
		100	
	2,46	50	
		100	
Bilirubin konjugiert	1,05	50	1,5 %
		100	
	2,46	50	
		100	
Triglycerid	1,07	5	6,7 %
		10	
		20	
		40	
	3,32	5	
		10	
		20	
		40	

C. Präzision

INTRA-ASSAY PRÄZISION				INTER-ASSAY PRÄZISION			
Serum	N	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)
A	20	1,27 ± 0,07	5,2	A	11	1,17 ± 0,10	8,6
B	20	4,08 ± 0,16	4,0	B	11	3,93 ± 0,26	6,5

SD : Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

D. Genauigkeit

VERDÜNNUNGSTEST			
Probe Serum	Verdünnung	Theoretische Konzentr. (ng/ml)	Gemessene Konzentr. (ng/ml)
A	1/1	-	20,89
	1/2	10,45	10,72
	1/4	5,22	5,64
	1/8	2,61	2,81
	1/16	1,31	1,40
	1/32	0,65	0,72
	1/64	0,33	0,41

Die Proben wurden mit Null-Kalibrator verdünnt.

WIEDERFINDUNGSTEST			
Zugeg. PROG (ng/ml)	Gemessene PROG-Konzentrationen		Wiedergefunden (%)
	Gesamt (ng/ml)	Gesamt minus Blindprobe (ng/ml)	
0	2,01	-	-
22,23	23,96	21,95	98,7 %
8,14	10,60	8,59	105,05 %
2,68	4,77	2,76	103,0 %
0,86	3,05	1,04	120,9 %
0,31	2,30	0,29	93,5 %

Umrechnungsfaktor :

Von ng/ml in nmol/L: x 3,18

Von nmol/L in ng/ml: x 0,314

Die Konzentrationen des Kalibrators sind auf eine interne Referenzpräparation rückführbar.

E. Zeitverzögerung zwischen letzter Kalibrator- und Probenzugabe

Es wird im folgenden gezeigt, dass die Genauigkeit der Tests selbst dann erhalten bleibt, wenn die Probe 40 Minuten nach Zugabe des Kalibrators in die beschichteten Röhrchen zugefügt wird.

ZEITABSTAND			
Serum (ng/ml)	0'	10	20'
1	1,5	1,5	1,5
2	9,4	10,8	9,3
3	20,6	20,3	20,4
4	1,2	0,9	1,0

XIV. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

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

XV. ZU ERWARTENDER BEREICH

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

	Konzentrationsbereich (*) (ng/ml)	Anz. der Personen
Männer	0,6 – 2,11	30
Frauen		
. Follikelphase	0,70 - 1,78	34
. Ovulationsgipfel	0.79 – 3.95	29
. Lutealphase	4.57 – 17.56	39
. Menopause	0.43 – 2.13	50

(*) Der Bereich basiert auf 2,5% und 97,5%-Perzentilen.

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

- ALPER M. et al (1987)
Comparison of follicular fluid hormones in patients with one or two ovaries participating in a program of in vitro fertilization.
Fertil. and Steril. 48, 1, 94-97
- GIDLEY-BAIRD A. et al. (1986)
Failure of implantation in human in vitro fertilization and embryo transfer patients : the effects of altered progesterone/estrogen ratios in humans and mice.
Fertil. Steril. 45, 1, 69-74.
- HEINONEN P. et al (1985)
Elevated progesterone levels in serum and ovarian venous blood in patients with ovarian tumors.
Acta Obstet.Gynecol. Scand. 64, 649-652.
- JANSSEN-CASPERS H. et al (1986)
Diagnosis of luteinized unruptured follicle by ultrasound and steroid hormone assays in peritoneal fluid : a comparative study.
Fertil. Steril.,46, 5, 823-827.
- KO-ENHUANG et al. (1986)
Serum progesterone levels in women treated with human menopausal gonadotropin and human chorionic gonadotropin for in vitro fertilization.

Fertility and Sterility, 46, 5, 903-906.

- KRUITWAGEN R. et al (1987)
Oestradiol-17b and progesterone level changes in peritoneal fluid around the time of ovulation.
British Journal of Obstetrics and Gynecology, 94, 548-553.
- MATTHEWS C. (1986)
Serum progesterone levels as an aid in the diagnosis of ectopic pregnancy.
Obstetrics and Gynecology, 68, 390-394.
- OSKOWITZ S. et al (1986)
Luteal phase serum progesterone levels after follicle aspiration with and without clomiphene citrate treatment.
Fertil. Steril., 46, 3, 461-465.

XVIII. ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

	GESAMT- AKTIVITÄT (µl)	KALIBRATORE N (µl)	PROBE(N)- KONTROL- LEN (µl)
Kalibratoren (0 - 6) Proben, Kontrollen Tracer	- - 500	50 - 500	- 50 500
Inkubation	2 Stunde bei 37° C ± 2°C im Wasserbad		
Separation Waschlösung Separation	-	Aspiration 3,0 ml Aspiration	
Auswertung	Messen der Röhrchen 60 Sekunden		

DIAsource Katalognummer: KIP1458	Beipackzettel- nummer: 1700637/de	Revisionsnummer: 140617/1
-------------------------------------	--------------------------------------	------------------------------

Revisionsdatum : 2014-06-17

Prima di utilizzare il kit leggere attentamente le istruzioni per l'uso

PROG-RIA-CT

I. USO DEL KIT

Kit radioimmunologico per la determinazione quantitativa in vitro del Progesterone (PROG) in siero.

II. INFORMAZIONI DI CARATTERE GENERALE

- A. Nome commerciale:** DIAsource PROG-RIA-CT Kit
- B. Numero di catalogo:** KIP1458: 96 test
- C. Prodotto da:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgio.

Per informazioni tecniche o su come ordinare il prodotto contattare:
Tel: +32 (0)10 84.99.11 Fax: +32 (0)10 84.99.91

III. INFORMAZIONI CLINICHE

A. Attività biologiche

Il progesterone è un ormone steroideo C-21 (peso molecolare: 314,5) sintetizzato dal colesterolo mediante il pregnenolone nelle cellule della granulosa e della teca del corpo luteo sotto effetto del LH. Le principali sedi produttive sono le ovaie e la placenta e in una certa misura la corteccia surrenale negli uomini e nelle donne. Il progesterone viene rapidamente metabolizzato nel fegato. Le concentrazioni nel sangue risultano molto ridotte nel corso della fase follicolare, mentre è possibile osservare un aumento sensibile nel corso della fase luteale del ciclo mestruale, per raggiungere il valore massimo circa 5-10 giorni dopo il picco dell'LH a metà ciclo.

B. Applicazioni cliniche

I livelli di progesterone nel siero, bassi durante la fase follicolare, aumentano durante la fase luteale del ciclo mestruale. Salvo si verifichi una gravidanza, il livello di progesterone diminuisce 4 giorni prima del periodo mestruale successivo. Pertanto, la misurazione dei livelli di progesterone rappresenta un metodo affidabile per rilevare la presenza dell'ovulazione. Ci sono tuttavia anche molte altre situazioni in cui le misurazioni di progesterone sono interessanti:

- Per verificare l'efficacia delle terapie di induzione dell'ovulazione;
- Per monitorare l'embryo transfer e l'andamento della terapia sostitutiva del progesterone;
- Per controllare le pazienti a rischio di aborto nel primo periodo di gravidanza;
- Per aiutare nella diagnosi di una gravidanza ectopica;
- Per rilevare la presenza di tutti i tumori ovarici (di natura benigna o maligna) nelle donne in età postmenopausale;
- Per diagnosticare il follicolo luteinizzato non rotto mediante un dosaggio di estradiolo 17 beta e dei livelli di progesterone nel fluido peritoneale;
- I profili steroidei dei fluidi follicolari e il rapporto E2/PROG consentono di rilevare un'induzione dell'ovulazione normale o disfunzionale (la sindrome del follicolo vuoto può riflettere la presenza di un'induzione dell'ovulazione disfunzionale).

IV. PRINCIPIO DEL METODO

Una quantità definita di PROG marcata con ¹²⁵I compete con il PROG presente in calibratore e campioni per un numero definito di siti di un anticorpo adsorbito sulla superficie interna di provette di polistirene. Poiché l’anticorpo è altamente specifico, non è necessario eseguire estrazioni o separazioni cromatografiche. Dopo 2 ore di incubazione a 37°C a bagnomaria, la reazione di competizione viene interrotta per aspirazione della miscela di reazione. Le provette vengono quindi lavate con tampone di lavaggio diluito e aspirate. La concentrazione di PROG nei campioni viene calcolata per interpolazione sulla curva calibratore.

V. REATTIVI FORNITI

Reattivi	Kit da 96 test	Codice colore	Volume di ricostituzione			
 Provette sensibilizzate con anticorpo anti PROG	2 x 48	argento	Pronte per l'uso			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> Marcato: PROG marcato con ¹²⁵ I (grado HPLC), in tampone acetato contenente caseina bovina e sodio azide (<0,1%)	Ag	¹²⁵ I	1 flacone 55 ml 220 kBq	rosso	Pronte per l'uso	
Ag	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Calibratore zero in siero umano e sodio azide (0,5%)	CAL	0	1 flacone 1 ml	giallo	Pronte per l'uso	
CAL	0					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibratori 1-6 di PROG, (le concentrazioni esatte dei calibratori sono riportate sulle etichette dei flaconi), in siero umano e sodio azide (0,5%)	CAL	N	6 flaconi 0,5 ml	giallo	Pronte per l'uso	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Tampone di lavaggio (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 flacone 10 ml	bruno	Diluire 70 x con acqua distillata usando un agitatore magnetico
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controlli: N = 1 o 2, in siero umano e timolo	CONTROL	N	2 flaconi liofilizzati	argento	Aggiungere 0,5 mL di acqua distillata	
CONTROL	N					

Note : Usare lo calibratore zero per diluire i campioni

VI. REATTIVI NON FORNITI

Il seguente materiale è richiesto per il dosaggio ma non è fornito nel kit.

- 1. Acqua distillata.
- 2. Pipette per dispensare 50 µL e 500 µL (Si raccomanda di utilizzare pipette accurate con puntale in plastica monouso).
- 3. Agitatore tipo vortex.
- 4. Agitatore magnetico.
- 5. Bagnomaria a 37°C ± 2°C
- 6. Pipetta a ripetizione automatica 5 mL per i lavaggi.
- 7. Sistema di aspirazione dei campioni (facoltativo).
- 8. Contatore gamma con finestra per ¹²⁵I (efficienza minima 70%)

VII. PREPARAZIONE DEI REATTIVI

- A. **Controlli:** Ricostituire i controlli con 0,5 ml di acqua distillata.
- B. **Soluzione di lavoro del tampone di lavaggio:** Preparare la quantità necessaria di soluzione di lavoro del tampone di lavaggio aggiungendo 69 parti di acqua distillata ad una parte di tampone di lavaggio concentrato (70x). Usare un agitatore magnetico per rendere la soluzione omogenea. La soluzione di lavoro va scartata al termine della giornata.

VIII. CONSERVAZIONE E SCADENZA DEI REATTIVI

- I reattivi non utilizzati sono stabili a 2-8°C fino alla data riportata su ciascuna etichetta.
- Dopo ricostituzione, controlli sono stabili 1 settimana a 2-8°C e, suddivisi in aliquote a -20°C per periodi più lunghi. Evitare ripetuti cicli di congelamento-scongelo dei campioni.

- La soluzione di lavoro del tampone di lavaggio deve essere preparata fresca ogni volta e usata nello stesso giorno della preparazione.
- Dopo apertura del flacone, il marcato è stabile fino alla data di scadenza riportata sull’etichetta, se conservato a 2-8°C nel flacone originale ben tappato.
- Alterazioni dell’aspetto fisico dei reattivi possono indicare una loro instabilità o deterioramento.

IX. RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

- Conservare i campioni di siero a 2-8°C.
- Se non si desidera eseguire il dosaggio entro 48 ore dal prelievo, si raccomanda di conservare i campioni a -20°C.
- Evitare ripetuti cicli di congelamento-scongelo dei campioni.

X. METODO DEL DOSAGGIO

- A. **Avvertenze generali**
Non usare il kit o suoi componenti oltre la data di scadenza. Non mescolare reattivi di lotti diversi. Prima dell’uso portare tutti i reattivi a temperatura ambiente. **Accertarsi con cura che il Tracciante sia a temperatura ambiente.**
Mescolare delicatamente i campioni per inversione o rotazione. Per evitare cross-contaminazioni, cambiare il puntale della pipetta ogni volta che si usi un nuovo reattivo o campione.
L’uso di pipette ben tarate e ripetibili o di sistemi di pipettamento automatici migliora la precisione del dosaggio. Rispettare i tempi di incubazione.
Allestire una curva di taratura per ogni seduta analitica, in quanto non è possibile utilizzare per un dosaggio curve di taratura di sedute analitiche precedenti.

- B. **Metodo del dosaggio**
 1. Numerare le provette sensibilizzate necessarie per dosare in duplicato ogni calibratore, campione o controllo. Numerare 2 provette non sensibilizzate per la determinazione dell’attività totale.
 2. Agitare brevemente su vortex calibratore, campioni e controlli. Dispensare 50 µL di calibratore, campioni e controlli nelle rispettive provette.
 3. Dispensare 500 µL di PROG marcato con ¹²⁵I in tutte le provette, comprese quelle per l’attività totale.
 4. Scuotere gentilmente il portaprovette per liberare eventuali bolle d’aria intrappolate nel liquido contenuto nelle provette.
 5. Incubare 2 ore a 37°C a bagnomaria.
 6. Aspirare il liquido contenuto in tutte le provette, tranne in quelle per l’attività totale, facendo attenzione che il puntale dell’aspiratore raggiunga il fondo delle provette e che aspiri tutto il liquido.
 7. Lavare tutte le provette, tranne quelle per l’attività totale, con 3 mL di soluzione di lavoro di tampone di lavaggio e aspirare, evitando di provocare la formazione di schiuma.
 8. Lasciare decantare le provette in posizione verticale per due minuti circa e aspirare eventuali gocce di liquido residue.
 9. Contare tutte le provette per 1 minuto con il contatore gamma.

XI. CALCOLO DEI RISULTATI

- 1. Calcolare la media delle determinazioni in duplicato.
- 2. Calcolare il rapporto (rapporto di competizione) tra radioattività legata alle provette di calibratore 1-5, campioni e controlli (B) e la radioattività legata alle provette dello calibratore zero (B0).

$$B/B0 (\%) = \frac{\text{cpm (Calibratore, campioni o controlli)}}{\text{cpm (Zero Calibratore)}} \times 100$$

- 3. Usando carta semilogaritmica a 3 cicli o logit-log e ponendo in ordinata i rapporti di competizione. B/B0 (%) per ogni calibratore e in ascissa le rispettive concentrazioni di PROG, tracciare la curva di taratura, scartare i valori palesemente discordanti.
- 4. È possibile utilizzare un sistema di interpolazione dati automatizzato. Con un sistema automatico di interpolazione dati, utilizzare la curva a 4 parametri.
- 5. Per interpolazione sulla curva di taratura dei rapporti di competizione di campioni e controlli, determinare le rispettive concentrazioni di PROG.
- 6. Per ogni dosaggio determinare la capacità legata B0/T.

XII. CARATTERISTICHE TIPICHE

I sotto riportati sono forniti a titolo di esempio e non devono essere utilizzati per calcolare le concentrazioni di PROG in campioni e controlli al posto della curva calibratore eseguita contemporaneamente.

PROG		cpm	B/Bo (%)
Attività totale		86718	
Calibratore	0,00 ng/ml	33822	100,0
	0,12 ng/ml	30680	90,7
	0,90 ng/ml	21353	63,1
	3,00 ng/ml	13831	40,9
	7,90 ng/ml	7899	23,4
	15,00 ng/ml	4849	14,3
	36,00 ng/ml	2180	6,5

XIII. CARATTERISTICHE E LIMITI DEL METODO

A. Sensibilità

La sensibilità, calcolata come concentrazione apparente di un campione con cpm pari alla media meno 2 deviazioni calibratore di 20 replicati dello calibratore zero, è risultata essere 0,05 ng/ml.

B. Specificità

Le percentuali di cross-reattività stimata rispetto alla concentrazione in grado di produrre un’inibizione al 50% sono rispettivamente:

Composto	Cross-Reattività (%)
20-α-Dihydroprogesterone	0,03
20-β-Dihydroprogesterone	3,27
5-α-Pregnan-3,20 dione	3,46
17-α-Hydroxyprogesterone	1,50
Pregnonelone	0,39
Cortisol	0,003
21-Deoxycortisol	0,01
11-Deoxycortisol	0,01
Corticosterone	0,30
11-Deoxycorticosterone	0,83
Androstenedione	0,12
Testosterone	0,03
Estradiol	< 0,0012
Danazol	< 0,0012
DHEA	0,02
DHEA-SO4	0,005

Nota : questa tabella mostra la cross-reattività relativa all’anti PROG

È stato valutato l'effetto delle sostanze che potrebbero interferire sui campioni utilizzando il test DIAsource PROG-RIA-CT. Sono stati esaminati diversi livelli di Emoglobina, Bilirubina, Trigliceridi e Bilirubina coniugata su campioni con diverse concentrazioni di PROG. In base ai nostri criteri di accettazione, l'interferenza doveva essere inferiore al 10%. Le sostanze esaminate non hanno modificato le prestazioni del test DIAsource PROG-RIA-CT.

Sostanza	PROG (ng/ml)	Concentrazione dell'interferente (mg/dl)	Variazione % media
Emoglobina	1,05	250	-6%
		500	
	2,46	250	
		500	
Bilirubina non coniugata	1,05	50	-9,2%
		100	
	2,46	50	
		100	
Bilirubina coniugata	1,05	50	1,5%
		100	
	2,46	50	
		100	
Trigliceridi	1,07	5	6,7%
		10	
		20	
		40	
	3,32	5	
		10	
		20	
		40	

C. Precisione

INTRA SAGGIO				INTER SAGGIO			
Siero	N	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)	Siero	N	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)
A	20	1,27 ± 0,07	5,2	A	11	1,17 ± 0,10	8,6
B	20	4,08 ± 0,16	4,0	B	11	3,93 ± 0,26	6,5

SD : Deviazione Standard; CV: Coefficiente di Variazione

D. Accuratezza

TEST DI DILUIZIONE			
Campione Siero	Diluizione	Concentrazione teorica (ng/ml)	Concentrazione misurata (ng/ml)
A	1/1	-	20,89
	1/2	10,45	10,72
	1/4	5,22	5,64
	1/8	2,61	2,81
	1/16	1,31	1,40
	1/32	0,65	0,72
	1/64	0,33	0,41

I campioni sono stati diluiti con calibratore zero.

TEST DI RECUPERO			
PROG aggiunto (ng/ml)	Concentrazioni di PROG misurate		Recupero (%)
	Totale (ng/ml)	In bianco (ng/ml)	
0	2,01	-	-
22,23	23,96	21,95	98,7%
8,14	10,60	8,59	105,5%
2,68	4,77	2,76	103,0%
0,86	3,05	1,04	120,9%
0,31	2,30	0,29	93,5%

Fattore di conversione:

Da ng/ml a nmol/l : x 3,18
Da nmol/l a ng/ml : x 0,314

Le concentrazioni del calibratore sono riferite ad una preparazione di riferimento interna.

E. Tempo trascorso tra l’aggiunta dell’ultimo calibratore e il campione

Come mostrato nella seguente tabella, il dosaggio si mantiene accurato anche quando un campione viene aggiunto nelle provette sensibilizzate 40 minuti dopo l’aggiunta del calibratore.

TEMPO TRASCORSO			
Siero ng/ml	0'	10'	20'
1	1,5	1,5	1,5
2	9,4	10,8	9,3
3	20,6	20,3	20,4
4	1,2	0,9	1,0

XIV. CONTROLLO DI QUALITÀ INTERNO

- Se i risultati ottenuti dosando il Controllo 1 e il Controllo 2 non sono all’interno dei limiti riportati sull’etichetta dei flaconi, non è opportuno utilizzare i risultati ottenuti per i campioni, a meno che non si trovi una giustificazione soddisfacente.
- Ogni laboratorio può preparare un proprio pool di sieri da utilizzare come controllo, da conservare congelato in aliquote.
- I criteri di accettazione delle differenze tra i risultati in duplicato dei campioni devono basarsi sulla buona prassi di laboratorio.

XV. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Questi valori sono puramente indicativi, ciascun laboratorio potrà stabilire i propri intervalli normali.

	Range di concentrazione (ng/ml)	Numero di soggetti
Maschi	0,60 – 2,11	50
Femmine		
. Fase follicolare	0,70 – 1,78	34
. Fase ovulatoria	0,79 – 3,95	29
. Fase luteale	4,57 – 17,56	39
. Menopausa	0,43 – 2,13	50

(*) Intervallo basati su 2,5% e 97,5% percentili.

XVI. PRECAUZIONI PER L'USO

Sicurezza

Il kit è solo per uso diagnostico in vitro.

Il kit contiene ¹²⁵I (emivita: 60 giorni) emettente raggi X (28 keV) e γ (35,5 keV) ionizzanti.

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

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

In caso di contaminazione o dispersione di materiale radioattivo, fare riferimento alle norme locali di radioprotezione. I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti secondo le norme locali di radioprotezione. Lo scrupoloso rispetto delle norme per l'uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori. I reattivi di origine umana presenti nel kit sono stati dosati con metodi approvati da organismi di controllo europei o da FDA e si sono rivelati negativi per HBs Ag, anti HCV, anti HIV1 e anti HIV2. Non sono disponibili metodi in grado di offrire la certezza assoluta che derivati da sangue umano non possano provocare epatiti, AIDS o trasmettere altre infezioni. Manipolare questi reattivi o i campioni di siero o plasma secondo le procedure di sicurezza vigenti.

Tutti i prodotti di origine animale o loro derivati provengono da animali sani. I componenti di origine bovina provengono da paesi dove non sono stati segnalati casi di BSE. E' comunque necessario considerare i prodotti di origine animale come potenziali fonti di infezioni.

Evitare ogni contatto dell'epidermide con i reattivi contenenti sodio azide come conservante. La sodio azide può reagire con piombo rame o ottone presenti nelle tubature di scarico per formare metallo-azidi esplosive. Smaltire questi reattivi facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi.

Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici. Non pipettare i reattivi con pipette a bocca.

XVII. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- ALPER M. et al (1987)
Comparison of follicular fluid hormones in patients with one or two ovaries participating in a program of in vitro fertilization.
Fertil. and Steril. 48, 1, 94-97
- GIDLEY-BAIRD A. et al. (1986)
Failure of implantation in human in vitro fertilization and embryo transfer patients : the effects of altered progesterone/estrogen ratios in humans and mice.
Fertil. Steril. 45, 1, 69-74.
- HEINONEN P. et al (1985)
Elevated progesterone levels in serum and ovarian venous blood in patients with ovarian tumors.
Acta Obstet.Gynecol. Scand. 64, 649-652.
- JANSSEN-CASPERS H. et al (1986)
Diagnosis of luteinized unruptured follicle by ultrasound and steroid hormone assays in peritoneal fluid : a comparative study.
Fertil. Steril.,46, 5, 823-827.
- KO-ENHUANG et al. (1986)
Serum progesterone levels in women treated with human menopausal gonadotropin and human chorionic gonadotropin for in vitro fertilization.
Fertility and Sterility, 46, 5, 903-906.
- KRUITWAGEN R. et al (1987)
Oestradiol-17b and progesterone level changes in peritoneal fluid around the time of ovulation.
British Journal of Obstetrics and Gynecology, 94, 548-553.

- MATTHEWS C. (1986)
Serum progesterone levels as an aid in the diagnosis of ectopic pregnancy.
Obstetrics and Gynecology, 68, 390-394.
- OSKOWITZ S. et al (1986)
Luteal phase serum progesterone levels after follicle aspiration with and without clomiphene citrate treatment.
Fertil. Steril., 46, 3, 461-465.

XVIII. SCHEMA DEL DOSAGGIO

	Attività totale μL	Calibratore μL	Campioni Controlli μL
Calibratore (0 - 6)	-	50	-
Campioni, controlli	-	-	50
Marcato	500	500	500
Incubazione	2 ore a 37°C ± 2°C a bagnomaria		
Separazione Soluzione di lavoro del tampone di lavaggio Separazione	-	Aspirare 3,0 ml Aspirare	
Conteggio	Contare le provette per 1 minuto		

Numero di catalogo di DIAsource: KIP1458	P.I. numero: 1700637/it	Revisione numero: 140617/1
---	----------------------------	-------------------------------

Data di revisione : 17/06/2014

Leer el protocolo completo antes de usar.

PROG-RIA-CT

I. INSTRUCCIONES DE USO

Radioinmunoensayo para la determinación cuantitativa in vitro de Progesterona (PROG) humana en suero.

II. INFORMACIÓN GENERAL

- A. **Nombre :** DIAsource PROG-RIA-CT Kit
- B. **Número de Catálogo:** KIP1458 : 96 tests
- C. **Fabricado por:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

For technical assistance or ordering information contact :
Tel : +32 (0)10 84.99.11 Fax : +32 (0)10 84.99.91

III. INFORMACIÓN CLÍNICA

A. Actividad biológica

La Progesterona es una hormona esteroidea C-21 (peso molecular: 314.5) que es sintetizada a partir del colesterol vía pregnenolona en las células teca y granulosa del cuerpo lúteo bajo la influencia de HL. Los sitios de mayor producción son los ovarios y la placenta y algo en la corteza suprarrenal, tanto en hombres como en mujeres. La progesterona se metaboliza rápidamente en el hígado. Los niveles sanguíneos son muy bajos durante la fase folicular mientras que se observa un aumento durante la fase lútea del ciclo menstrual, alcanzando los valores más altos entre 5 y 10 días del tope de HL en la mitad del ciclo.

B. Aplicaciones clínicas

Los niveles de progesterona sérica que están disminuidos durante la fase folicular, aumentan durante la fase lútea del ciclo menstrual. A no ser que haya un embarazo, el nivel de progesterona disminuye 4 días antes del período menstrual siguiente. Así, la medición de los niveles de progesterona constituye un método bien establecido para la detección de la ovulación. Sin embargo hay muchos casos en que la medición de progesterona también resulta interesante:

- Para comprobar cuán efectiva es la inducción de ovulación;
- Para controlar la transferencia del embrión y la terapia de reemplazo de progesterona;
- Para detectar pacientes con riesgo de aborto al principio del embarazo;
- Para ayudar al diagnóstico de embarazo ectópico;
- Para detectar todos los tumores ováricos (benignos y malignos) en mujeres post-menopáusicas;
- Para diagnosticar un folículo luteinizado sin ruptura por los niveles de la dosis de 17 beta-estradiol y progesterona en el líquido peritoneal;
- Los perfiles esteroideos de fluidos foliculares y la proporción de E2/PROG permiten la detección de una inducción a la ovulación normal o disfuncional. (El síndrome de folículo vacío puede reflejar una inducción disfuncional de la ovulación).

IV. PRINCIPIOS DEL MÉTODO

Una cantidad fija de esteroide marcada con I¹²⁵ compite con el esteroide a medir, presente en la muestra ó en el calibrador, por los puntos de unión del anticuerpo inmovilizado en las paredes de un tubo de poliestireno. No se necesita ni extracción ni cromatografía. Después de 2 horas de incubación a 37°C en baño de agua, una aspiración termina con la reacción de competición. Los tubos se lavan con 3 ml de Solución de lavado y se aspiran otra vez. Se dibuja la curva de calibración y las concentraciones de Progesterona de las muestras se determinan por interpolación de la dosis en la curva de calibración

V. REACTIVOS SUMINISTRADOS

Reactivos	Kit 96 test	Código de Color	Reconstitución			
 Tubos recubiertos con anti PROG	2 x 48	plateado	Listo para uso			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRAZADOR: PROG marcado con I ¹²⁵ (grado HPLC) en tampón de acetato con caseína bovina y azida (<0,1%)	Ag	¹²⁵ I	1 vial 55 ml 220 kBq	rojo	Listo para uso	
Ag	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Calibrador cero en suero humano y azida (0.5%)	CAL	0	1 vial 1 ml	amarillo	Listo para uso	
CAL	0					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibradores - N = 1 a 6 (mirar los valores exactos en las etiquetas) en suero humano y azida (0.5%)	CAL	N	6 viales 0,5 ml	amarillo	Listo para uso	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Solución de lavado (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 vial 10 ml	marrón	Diluir 70 x con agua destilada (utilizar agitador magnético)
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controles - N = 1 o 2 en suero humano con timol	CONTROL	N	2 viales liofilizados	plateado	Añadir 0,5 ml de agua destilada	
CONTROL	N					

Nota: Para diluciones de muestras utilizar calibrador cero.

VI. MATERIAL NO SUMINISTRADO

- El material mencionado a continuación es necesario y no está incluido en el kit
- 1. Agua destilada
 - 2. Pipetas de 50µl y 500 µl (Se recomienda el uso de pipetas precisas con puntas desechables de plástico)
 - 3. Vortex
 - 4. Agitador magnético
 - 5. Baño de agua a 37°C ± 2°C
 - 6. Jeringa automática 5 ml (tipo Cornwall) para el lavado
 - 7. Sistema de aspiración (opcional)
 - 8. Contador de radiaciones gamma para medir I¹²⁵ (mínima eficiencia 70%)

VII. PREPARACIÓN REACTIVOS

- A. **Controles:** Reconstituir los controles con 0,5 ml de agua destilada.
- B. **Solución de lavado de trabajo:** Preparar el volumen necesario de Solución de lavado de trabajo mezclando 69 partes de agua destilada por 1 parte de Solución de lavado (70x). Utilizar un agitador magnético para homogeneizar. Desechar la solución de lavado de trabajo no utilizada al final del día.

VII. ALMACENAJE Y CADUCIDADES DE LOS REACTIVOS

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

IX. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- Las muestras de suero deben ser guardadas a 2-8°C.
- Si el ensayo no se realiza en 48 hrs., almacenar las muestras a -20°.
- Evitar congelar y descongelar sucesivamente.

X. PROTOCOLO

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

- B. **Protocolo**
 1. Marcar los tubos recubiertos por duplicado para cada uno de los estándares, muestras y controles. Para la determinación de las Cuentas Totales, marcar 2 tubos normales.
 2. Agitar brevemente los calibradores, muestras y controles y dispensar 50 µl de cada uno en sus respectivos tubos.
 3. Dispensar 500 µl de PROG marcado con I¹²⁵ en cada tubo, incluyendo los tubos no recubiertos a las Cuentas Totales.
 4. Agitar suavemente la gradilla de tubos para soltar cualquier burbuja cautiva en las paredes de los tubos.
 5. Incubar durante 2 horas a 37°C en baño de agua.
 6. Aspirar el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales). Asegurarse que la punta de la pipeta de aspiración toca el fondo del tubo con el fin de aspirar todo el líquido.
 7. Lavar los tubos con 3 ml de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales) y aspirar. Evitar la formación de espuma durante la adición de la Solución de lavado
 8. Dejar los tubos en posición inversa durante 2 minutos y aspirar el líquido restante.
 9. Medir la actividad de cada tubo durante 60 segundos en un Contador Gamma.

XI. CALCULO DE RESULTADOS

1. Calcular la media de los duplicados.
2. Calcular la radiactividad enlazada como un porcentaje de la unión con respecto al calibrador cero (0) de acuerdo con la siguiente fórmula:
$$B/B0 (\%) = \frac{\text{Cuentas (Calibrador ó muestra)}}{\text{Cuentas (Calibrador Cero)}} \times 100$$
3. Utilizando papel 3 ciclo semilogarítmico ó logit-log, representar los valores de (B/B0%) de cada calibrador frente a las concentraciones del PROG de cada calibrador, rechazando los extremos claros.
4. Métodos computarizados de computación de resultados pueden ser utilizados para la construcción de la curva de calibración. Si se utiliza un sistema automático de cálculo de resultados, se recomienda usar la representación gráfica “ 4 parámetros”.
5. Por interpolación de los valores (B/B%) de las muestras, se determinan los valores de las concentraciones de las mismas desde la curva de calibración.
6. El porcentaje total de enlace del trazador en ausencia de PROG no marcado (B0/T) debe ser calculado en cada ensayo.

XII. EJEMPLO DE RESULTADOS

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

PROG	cpm	B/Bo (%)
Cuentas Totales	86718	
Calibrador		
0,00 ng/ml	33822	100,0
0,12 ng/ml	30680	90,7
0,90 ng/ml	21353	63,1
3,00 ng/ml	13831	40,9
7,90 ng/ml	7899	23,4
15,00 ng/ml	4849	14,3
36,00 ng/ml	2180	6,5

XIII. REALIZACIÓN Y LIMITACIONES

A. Limite de detección

Veinte calibradores cero fueron medidos en una curva con otros calibradores.
El límite de detección, definido como la concentración aparente resultante de dos desviaciones estándares debajo de la media de enlace del calibrador cero, fue de 0,05 ng/ml.

B. Especificidad

El porcentaje de reacción cruzada estimada en relación a la concentración que produce 50% de inhibición es respectivamente:

Componente	Reacción-cruzada (%)
20- α -Dihidroprogesterona	0,03
20- β - Dihidroprogesterona	3,27
5- α -Pregnan-3,20 diona	3,46
17- α -Hidroxiprogesterona	1,50
Pregnonelona	0,39
Cortisol	0,003
21-Deoxicortisol	0,01
11-Deoxicortisol	0,01
Corticosterona	0,30
11-Deoxicorticosterona	0,83
Androstenediona	0,12
Testosterona	0,03
Estradiol	< 0,0012
Danazol	< 0,0012
DHEA	0,02
DHEA-SO4	0,005

Nota: Esta tabla presenta la reacción cruzada para el anti PROG

Se evaluó la posible interferencia de sustancias en las muestras al utilizar la prueba DIASource PROG-RIA-CT. Se probaron distintas concentraciones de hemoglobina, bilirrubina, triglicéridos y bilirrubina conjugada en muestras con diferentes concentraciones de progesterona. Nuestro criterio de aceptación fue que hubiera una interferencia menor de 10%. Las sustancias analizadas no afectaron el rendimiento de la prueba DIASource PROG_RIA_CT.

Sustancia	PROG (ng/ml)	Concentración de la sustancia que interfiere (mg/dl)	% Variación promedio
Hemoglobina	1,05	250	-6%
		500	
	2,46	250	
		500	
Bilirrubina No conjugada	1,05	50	-9,2%
		100	
	2,46	50	
		100	
Bilirrubina conjugada	1,05	50	1,5%
		100	
	2,46	50	
		100	
Triglicéridos	1,07	5	6,7%
		10	
		20	
		40	
	3,32	5	
		10	
		20	
		40	

C. Precisión

PRECISION INTRA-ENSAYO				PRECISION INTER-ENSAYO			
Suero	N	<X> $\pm$ SD (ng/ml)	CV (%)	Suero	N	<X> $\pm$ SD (ng/ml)	CV (%)
A	20	1,27 $\pm$ 0,07	5,2	A	11	1,17 $\pm$ 0,10	8,6
B	20	4,08 $\pm$ 0,16	4,0	B	11	3,93 $\pm$ 0,26	6,5

SD : Desviación Estándar; CV: Coeficiente de Variación

D. Exactitud

TEST DILUCIÓN

Muestra	Dilución	Concent. Teórica (ng/ml)	Concent. Medida (ng/ml)
A	1/1	-	33,86
	1/2	16,93	17,16
	1/4	8,47	8,20
	1/8	4,23	3,88
	1/16	2,12	1,96
	1/32	1,06	1,11
	1/64	0,53	0,57

Las muestras fueron diluidas con el Calibrador cero.

PRUEBA DE RECUPERACIÓN

Progesterona añadida	Concentración de progesterona medida		Recuperación (%)
	Total (ng/ml)	Menos el blanco (ng/ml)	
0	2,01	-	-
22,23	23,96	21,95	98,7%
8,14	10,60	8,59	105,5%
2,68	4,77	2,76	103,0%
0,86	3,05	1,04	120,9%
0,32	2,30	0,29	93,5%

Factor de conversión:

De ng/ml a nmol/L : x 3,18
De nmol/L a ng/ml : x 0,314

Las concentraciones del calibrador se pueden referir a una preparación de referencia interna.

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

Como se muestra a continuación la precisión del ensayo se mantiene incluso en el caso de dispensar la muestra 40 minutos después de haberse adicionado el calibrador a los tubos cubiertos.

TIEMPO DE ESPERA

Suero ng/ml	0'	10'	20'
1	1,5	1,5	1,5
2	9,4	10,8	9,3
3	20,6	20,3	20,4
4	1,2	0,9	1,0

XIV. CONTROL DE CALIDAD INTERNO

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

XV. INTERVALOS DE REFERENCIA

Estos valores solamente sirven de pauta; cada laboratorio tiene que establecer sus propios valores normales.

	Rango de Concentraciones (ng/ml)	Número de individuos
Hombres	0,60 – 2,11	50
Mujeres		
. Fase folicular	0,70 – 1,78	34
. Fase ovulatoria	0,79 – 3,95	29
. Fase lútea	4,57 – 17,56	39
. Menopausia	0,43 – 2,13	50

(*) El rango se basa en 2,5 % y 97,5 % percentiles

XVI. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Seguridad

Para uso solo en diagnóstico in vitro.
Este kit contiene I¹²⁵ (vida media : 60 días) emisor de rayos X (28 keV) y de rayos γ (35,5 keV) ionizantes.
Este producto radiactivo solo puede ser manejado y utilizado por personas autorizadas; la compra, almacenaje, uso y cambio de productos radiactivos están sujetos a la legislación del país del usuario. En ningún caso el producto deberá ser suministrado a humanos y animales.
Todo el manejo de producto radiactivo se hará en un área señalizada, diferente de la de paso regular. Deberá de utilizarse un libro de registros de productos radiactivos utilizados. El material de laboratorio, vidrio que podría estar contaminado radiactivamente deberá de descontaminarse para evitar la contaminación con otros isótopos.
Cualquier derramamiento radiactivo deberá ser limpiado de inmediato de acuerdo con los procedimientos de seguridad. Los desperdicios radiactivos deberán ser almacenados de acuerdo con las regulaciones y normativas vigentes de la legislación a la cual pertenezca el laboratorio. El ajustarse a las normas básicas de seguridad radiológica facilita una protección adecuada.
Los componentes de sangre humana utilizados en este kit han sido testados por métodos aprobados por la CEE y/ó la FDA dando negativo a HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 y 2. No se conoce ningún método que asegure que los derivados de la sangre humana no transmitan hepatitis, SIDA u otras infecciones. Por lo tanto el manejo de los reactivos y muestras se hará de acuerdo con los procedimientos de seguridad locales.
Todos los productos animales y derivados han sido obtenidos a partir de animales sanos. Componentes bovinos originales de países donde BSE no ha sido informado. Sin embargo, los componentes conteniendo sustancias animales deberán ser considerados como potencialmente infecciosos.
Evitar cualquier contacto de los reactivos con la piel (azida sódica como conservante). La azida en este kit puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías y producir azidas metálicas altamente explosivas. Durante el proceso de lavado, hacer circular mucha cantidad de agua por el sumidero para evitar el almacenamiento de la azida.
No fumar, beber, comer ó utilizar cosméticos en el área de trabajo. No pipetear con la boca. Utilizar ropa de protección y guantes.

XVII. BIBLIOGRAFIA

1. ALPER M. et al (1987)
Comparison of follicular fluid hormones in patients with one or two ovaries participating in a program of in vitro fertilization.
Fertil. and Steril. 48, 1, 94-97

2. GIDLEY-BAIRD A. et al. (1986)
Failure of implantation in human in vitro fertilization and embryo transfer patients : the effects of altered progesterone/estrogen ratios in humans and mice.
Fertil. Steril. 45, 1, 69-74.

3. HEINONEN P. et al (1985)
Elevated progesterone levels in serum and ovarian venous blood in patients with ovarian tumors.
Acta Obstet.Gynecol. Scand. 64, 649-652.

4. JANSSEN-CASPERS H. et al (1986)
Diagnosis of luteinized unruptured follicle by ultrasound and steroid hormone assays in peritoneal fluid : a comparative study.
Fertil. Steril.,46, 5, 823-827.

5. KO-ENHUANG et al. (1986)
Serum progesterone levels in women treated with human menopausal gonadotropin and human chorionic gonadotropin for in vitro fertilization.
Fertility and Sterility, 46, 5, 903-906.

6. KRUITWAGEN R. et al (1987)
Oestradiol-17b and progesterone level changes in peritoneal fluid around the time of ovulation.
British Journal of Obstetrics and Gynecology, 94, 548-553.

7. MATTHEWS C. (1986)
Serum progesterone levels as an aid in the diagnosis of ectopic pregnancy.
Obstetrics and Gynecology, 68, 390-394.

8. OSKOWITZ S. et al (1986)
Luteal phase serum progesterone levels after follicle aspiration with and without clomiphene citrate treatment.
Fertil. Steril., 46, 3, 461-465.

XVIII. RESUMEN DEL PROTOCOLO

	CUENTAS TOTALES (µl)	CALIBRADORES (µl)	MUESTRA(S) CONTROL(S) (µl)
Calibradores (0 al 6) Muestras, controles Trazador	- - 500	50 - 500	- 50 500
Incubación	2 horas a 37°C en baño de agua		
Separación Solución de lavado de trabajo Separación	-	Aspirar 3,0 ml Aspirar	
Contaje	Contar los tubos durante 60 segundos		

DIAsource Catalogo Nr: KIP1458	P.I. Numero: 1700637/es	Revisión nr : 140617/1
-----------------------------------	----------------------------	---------------------------

Fecha de la revisión: 2014-06-17

Διαβάστε ολόκληρο το πρωτόκολλο πριν από τη χρήση.

PROG-RIA-CT

I. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Ραδιοανοσοπροσδιορισμός για την *in vitro* ποσοτική μέτρηση της ανθρώπινης προγεστερόνης (PROG) στον ορό.

II. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

- A. **Εμπορική ονομασία:** Κιτ PROG-RIA-CT της DIASource
- B. **Αριθμός καταλόγου:** KIP1459: 96 προσδιορισμοί
- Γ. **Κατασκευάζεται από την:** DIASource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

Για τεχνική βοήθεια ή πληροφορίες σχετικά με παραγγελίες επικοινωνήστε στα:
Τηλ.: +32 (0)10 84.99.11 Φαξ: +32 (0)10 84.99.91

III. ΚΛΙΝΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

A. Βιολογική δράση

Η προγεστερόνη είναι μια στεροειδής ορμόνη C-21 (μοριακό βάρος: 314,5), η οποία συντίθεται από τη χοληστερόλη μέσω της πρεγνενολόνης στα ωοθυλακικά κύτταρα του κοκκιώδους στρώματος και στα κύτταρα της θήκης του ωχρού σωματίου υπό την επίδραση της LH. Τα κύρια σημεία παραγωγής είναι οι ωθήκες και ο πλακούντας και σε μικρό βαθμό ο φλοιός των επινεφριδίων τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες. Η προγεστερόνη μεταβολίζεται ταχέως από το ήπαρ. Τα επίπεδα στο αίμα είναι πολύ χαμηλά κατά τη διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης ενώ μπορεί να παρατηρήσει κανείς μια οξεία αύξηση κατά τη διάρκεια της ωχρινικής φάσης του έμμηνου κύκλου φθάνοντας στη μέγιστη τιμή περίπου 5 έως 10 ημέρες μετά την κορύφωση της LH στο μέσο του κύκλου.

B. Κλινικές εφαρμογές

Τα επίπεδα της προγεστερόνης στον ορό, τα οποία είναι χαμηλά κατά την ωοθυλακική φάση, αυξάνονται κατά την ωχρινική φάση του εμμήνου κύκλου. Αν δεν υπάρξει κύηση, το επίπεδο της προγεστερόνης παρουσιάζει πτώση 4 ημέρες πριν την επόμενη έμμηνο ρύση. Έτσι, η μέτρηση των επιπέδων της προγεστερόνης αποτελεί μια καλά καθιερωμένη μέθοδο για την ανίχνευση ωορρηξίας. Υπάρχουν όμως πολλές περιπτώσεις όπου επίσης παρουσιάζουν ενδιαφέρον οι μετρήσεις της προγεστερόνης:

- Για έλεγχο της αποτελεσματικότητας της επαγωγής ωορρηξίας
- Για έλεγχο και παρακολούθηση της εμβρυομεταφοράς και της θεραπείας υποκατάστασης προγεστερόνης
- Για τον εντοπισμό ασθενών σε κίνδυνο για αποβολή στην αρχή της κύησης
- Για βοήθεια στη διάγνωση εκτόπου κυήσεως
- Για την ανίχνευση όλων των όγκων των ωοθηκών (καλοήθεις και κακοήθεις) σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες
- Για διάγνωση ωχρινοποιημένου άνευ ρήξεως ωοθυλακίου με τον υπολογισμό των επιπέδων της 17 β-οιστραδιόλης και της προγεστερόνης στο περιτοναϊκό υγρό.
- Τα στεροειδικά προφίλ των ωοθυλακικών υγρών και ο λόγος E2/PROG επιτρέπουν την ανίχνευση φυσιολογικής ή δυσλειτουργικής επαγωγής ωορρηξίας. (Το σύνδρομο του κενού ωοθυλακίου μπορεί να υποδηλώνει δυσλειτουργική επαγωγή ωορρηξίας).

IV. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Μια σταθερή ποσότητα στεροειδούς σημασμένου με 125I ανταγωνίζεται με το στεροειδές 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 ούτε εκχύλιση ούτε χρωματογραφία. Μετά από 2 ώρες επώαση στους 37°C σε υδατόλουτρο, η αντίδραση ανταγωνισμού τερματίζεται με ένα βήμα αναρρόφησης. Τα σωληνάρια κατόπιν πλένονται με 3 ml διαλύματος πλύσης και αναρροφούνται. Παριστάνεται γραφικά μια καμπύλη βαθμονόμησης και προσδιορίζονται οι συγκεντρώσεις προγεστερόνης των δειγμάτων με αναγωγή συγκεντρώσεων από την καμπύλη βαθμονόμησης.

V. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Αντιδραστήρια	Κιτ 96 προσδιορι- σμών	Χρωμα- τικός κωδικός	Ανασύσταση			
 Σωληνάρια επιστρωμένα με αντι-PROG	2 x 48	ασημί	Έτοιμο για χρήση			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> ΙΧΝΗΘΕΤΗΣ: PROG σημασμένη με ¹²⁵ I (κατηγορίας HPLC) σε Ρυθμιστικό διάλυμα οξικού άλτος με βόεια καζένη και αζίδιο (<0,1%)	Ag	¹²⁵ I	1 φιαλίδιο 55 ml 220 kBq	κόκκινο	Έτοιμο για χρήση	
Ag	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Μηδενικός βαθμονομητής σε ανθρώπινο ορό και αζίδιο (0,5%)	CAL	0	1 φιαλίδιο 1 ml	κίτρινο	Έτοιμο για χρήση	
CAL	0					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Βαθμονομητές - N = 1 έως 6 (δείτε τις ακριβείς τιμές πάνω στις ετικέτες των φιαλιδίων) σε ανθρώπινο ορό και αζίδιο (0,5%)	CAL	N	6 φιαλίδια 0,5 ml	κίτρινο	Έτοιμο για χρήση	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Διάλυμα πλύσης (TRIS-HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 φιαλίδιο 10 ml	καφέ	Αραιώστε 70 x με απεσταγμένο νερό (χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα).
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Οροί ελέγχου - N = 1 ή 2 σε ανθρώπινο ορό με θυμόλη	CONTROL	N	2 φιαλίδια λυοφιλοποι ημένο	ασημί	Προσθέστε 0,5 ml απεσταγμένου νερού	
CONTROL	N					

Σημείωση: Χρησιμοποιείτε το μηδενικό βαθμονομητή για αραιώσεις ορών.

VI. ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Τα ακόλουθα υλικά απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται στο κιτ:

- Απεσταγμένο νερό
- Πιπέτες για διανομή: 50 µl και 500 µl (συνιστάται η χρήση πιπετών ακριβείας με αναλώςιμα πλαστικά ρύγχη)
- Αναμεικτής στροβιλισμού
- Μαγνητικός αναδευτήρας
- Υδατόλουτρο στους 37 ± 2°C
- 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. Οροί ελέγχου:** Ανασυστήστε τους ορούς ελέγχου με 0,5 ml απεσταγμένου νερού.
- B. 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 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 πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2-8° C.
- Εάν η εξέταση δεν πραγματοποιηθεί εντός 48 ωρών, συνιστάται η φύλαξη στους -20° C.
- Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.

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. **Θα πρέπει να προσέξετε ιδιαίτερα για να βεβαιωθείτε ότι ο ιχνηθέτης είναι σε θερμοκρασία δωματίου.** Αναμείξτε καλά όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα με απαλή ανακίνηση ή ανάδευση. Χρησιμοποιείτε ένα καθαρό αναλώςσιμο ρύγχος πιπέτας για την προσθήκη κάθε διαφορετικού αντιδραστηρίου και δείγματος προκειμένου να αποφύγετε την επιμόλυνση. Η ακρίβεια βελτιώνεται με χρήση πιπετών υψηλής ακριβείας 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) ορούς ελέγχου και δείγματα και διανείμετε 50 µl από έκαστο σε αντίστοιχα σωληνάρια.
- Διανείμετε 500 µl PROG σημασμένης με 125I σε κάθε σωληνάριο, συμπεριλαμβανοντας 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 για 2 ώρες στους 37°C σε υδατόλουτρο
- Αναρροφήστε 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 3 ml διαλύματος πλύσης εργασίας (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη 125I ["total"]) και αναρροφήστε. 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

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

B/B0(%) = $\frac{\text{Κρούσεις (BBαθμονομητής ή δείγμα)}}{\text{Κρούσεις (MMηδενικβαθμονομητής)}}$ x100
3. Με χρήση ημιλογαριθμικού χαρτιού γραφήματος ή χαρτιού γραφήματος logit-log 3 κύκλων, παραστήστε γραφικά τις τιμές (B/B0(%)) για κάθε σημείο βαθμονομητή ως συνάρτηση της συγκέντρωσης της PROG για κάθε σημείο βαθμονομητή. 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/B0 (%)), προσδιορίστε τις συγκεντρώσεις PROG των δειγμάτων από την καμπύλη βαθμονόμησης.
6. Για κάθε προσδιορισμό, πρέπει να ελέγχεται το ποσοστό του συνολικού ιχνηθέτη που δεσμεύεται εν τη απουσία μη σημασμένης PROG (B0/T).

XII. ΤΥΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

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

PROG		cpm	B/Bo (%)
Κρούσεις του ιχνηθέτη ¹²⁵ I ("total")		86718	
Βαθμονομητής	0,00 ng/ml	33822	100,0
	0,12 ng/ml	30680	90,7
	0,90 ng/ml	21353	63,1
	3,00 ng/ml	13831	40,9
	7,90 ng/ml	7899	23,4
	15,00 ng/ml	4849	14,3
	36,00 ng/ml	2180	6,5

XIII. ΑΠΟΛΟΣΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

A. Όριο ανίχνευσης
Μετρήθηκαν είκοσι μηδενικοί βαθμονομητές μαζί με ένα σύνολο άλλων βαθμονομητών.
Το όριο ανίχνευσης, οριζόμενο ως η φαινομενική συγκέντρωση δύο τυπικών αποκλίσεων κάτω από τις μέσες μετρήσεις σε μηδενική δέσμευση, ήταν 0,05 ng/ml.

B. Ειδικότητα

Το ποσοστό διασταυρούμενης αντίδρασης, που υπολογίζεται με σύγκριση της συγκέντρωσης που αποδίδει αναστολή 50%, είναι αντίστοιχα:

Ένωση	Διασταυρούμενη αντίδραση (%)
20-α-διδροπρογεστερόνη	0,03
20-β-διδροπρογεστερόνη	3,27
5-α-πρεγναν-3,20 διόνη	3,46
17-α-υδροξυπρογεστερόνη	1,50
Πρεγνονερόνη	0,39
Κορτιζόλη	0,003
21-δεοξυκορτιζόλη	0,01
11-δεοξυκορτιζόλη	0,01
Κορτικοστερόνη	0,30
11-δεοξυκορτικοστερόνη	0,83
Ανδροστενεδιόνη	0,12
Τεστοστερόνη	0,03
Οιστραδιόλη	< 0,0012
Δαναζόλη	< 0,0012
DHEA	0,02
DHEA-SO4	0,005

Σημείωση: Στον πίνακα αυτό παρουσιάζεται η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα για την αντι PROG.

Αξιολογήθηκε η επίδραση δυνητικών ουσιών παρεμβολής σε δείγματα για τα οποία χρησιμοποιείται η δοκιμασία DIASource PROG-RIA-CT. Διαφορετικά επίπεδα αιμοσφαιρίνης, χολερυθρίνης, τριγλυκεριδίων και συζυγούς

χολερυθρίνης υποβλήθηκαν σε δοκιμασία σε δείγματα με διαφορετικές συγκεντρώσεις PROG. Τα κριτήρια αποδοχής μας ήταν η παρεμβολή να είναι κάτω από 10%. Οι ουσίες που υποβλήθηκαν σε δοκιμασία δεν επηρέασαν την απόδοση της δοκιμασίας DIASource PROG-RIA-CT.

Ουσία	PROG (ng/mL)	Συγκέντρωση ουσίας παρεμβολής (mg/dL)	Μέση % διακύμανση
Αιμοσφαιρίνη	1,05	250	-6%
		500	
	2,46	250	
		500	
Μη συζευγμένη χολερυθρίνη	1,05	50	-9,2%
		100	
	2,46	50	
		100	
Συζευγμένη χολερυθρίνη	1,05	50	1,5%
		100	
	2,46	50	
		100	
Τριγλυκερίδια	1,07	5	6,7%
		10	
		20	
		40	
	3,32	5	
		10	
		20	
		40	

Γ. Ακρίβεια

ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ				ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ			
Ορός	N	<X> ± T.A. (ng/ml)	Σ.Δ. (%)	Ορός	N	<X> ± T.A. (ng/ml)	Σ.Δ. (%)
A	20	1,27 ± 0,07	5,2	A	11	1,17 ± 0,10	8,6
B	20	4,08 ± 0,16	4,0	B	11	3,93 ± 0,26	6,5

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

Δ. Ορθότητα

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΡΑΙΩΣΗΣ			
Δείγμα Ορός	Αραίωση	Θεωρητική συγκέντρωση (ng/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (ng/ml)
A	1/1	-	33,86
	1/2	16,93	17,16
	1/4	8,47	8,20
	1/8	4,23	3,88
	1/16	2,12	1,96
	1/32	1,06	1,11
	1/64	0,53	0,57

Τα δείγματα αραιώθηκαν με μηδενικό βαθμονομητή.

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ			
Προσθεθ. PROG (ng/ml)	Μετρηθ. συγκεντρώσεις PROG		Ανάκτηση (%)
	Σύνολο (ng/ml)	Σε τυφλό (ng/ml)	
0	2,01	-	-
22,23	23,96	21,95	98,7%
8,14	10,60	8,59	105,5%
2,68	4,77	2,76	103,0%
0,86	3,05	1,04	120,9%
0,31	2,30	0,29	93,5%

Συντελεστής μετατροπής:

Από ng/ml σε nmol/l: x 3,18
Από nmol/l σε ng/ml: x 0,314

Οι συγκεντρώσεις της βαθμονόμησης είναι ιχνηλάσιμες σύμφωνα με εσωτερική διαδικασία αναφοράς.

E. Μεσοδιάστημα μεταξύ της διανομής τελευταίου βαθμονομητή και δείγματος

Όπως φαίνεται στη συνέχεια, τα αποτελέσματα του προσδιορισμού παραμένουν αξιόπιστα ακόμα και όταν διανέμεται ένα δείγμα 40 λεπτά μετά την προσθήκη του βαθμονομητή στα επιστρωμένα σωληνάρια.

ΜΕΣΟΔΙΑΣΤΗΜΑ

Ορός ng/ml	0'	10'	20'
1	1,5	1,5	1,5
2	9,4	10,8	9,3
3	20,6	20,3	20,4
4	1,2	0,9	1,0

XIV. ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

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

XV. ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

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

	Πεδίο τιμών συγκέντρωσης (ng/ml)	Αριθμός ατόμων
Άνδρες	0,60 – 2,11	50
Γυναίκες		
· Ωοθυλακική φάση	0,70 – 1,78	34
· Κορυφή ωορρηξίας	0,79 – 3,95	29
· Ωχρινική φάση	4,57 – 17,56	39
· Εμμηνοπάυση	0,43 – 2,13	50

(*) Το πεδίο τιμών εκφράζεται ως ποσοστά επί τοις εκατό 2,5 % και 97,5 %. η κύηση δεν έχει προσδιοριστεί ακόμη

XVI. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Ασφαλείας

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

Το kit αυτό περιέχει το ¹²⁵I (Χρόνος ημιζωής: 60 ημέρες), μια ραδιενεργή ουσία η οποία εκπέμπει ιονίζουσα ακτινοβολία Χ (28 keV) και γ (35,5 keV). Αυτό το ραδιενεργό προϊόν είναι δυνατό να μεταφερθεί και να χρησιμοποιηθεί μόνο από εξουσιοδοτημένα άτομα. Η αγορά, φύλαξη, χρήση και ανταλλαγή ραδιενεργών προϊόντων υπόκειται στη νομοθεσία της χώρας του τελικού χρήστη. Σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να χορηγείται το προϊόν σε ανθρώπους ή ζώα.

Όλος ο χειρισμός του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να εκτελείται σε καθορισμένο χώρο, μακριά από χώρους τακτικής διέλευσης. Στο εργαστήριο πρέπει να διατηρείται ημερολόγιο για την παραλαβή και τη φύλαξη ραδιενεργών υλικών. Εξοπλισμός και γυάλινα σκεύη του εργαστηρίου, τα οποία θα μπορούσαν να μολυνθούν με ραδιενεργές ουσίες, θα πρέπει να φυλάσσονται σε ξεχωριστό χώρο για την πρόληψη επιμόλυνσης των διαφόρων ραδιοϊσοτόπων.

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

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

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

Αποφεύγετε οποιαδήποτε επαφή του δέρματος με αντιδραστήρια (χρησιμοποιείται αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό). Το αζίδιο στο kit αυτό ενδέχεται να αντιδράσει με μολύβδο 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. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. ALPER M. et al (1987)
Comparison of follicular fluid hormones in patients with one or two ovaries participating in a program of in vitro fertilization.
Fertil. and Steril. 48, 1, 94-97
2. GIDLEY-BAIRD A. et al (1986)
Failure of implantation in human in vitro fertilization and embryo transfer patients : the effects of altered progesterone/estrogen ratios in humans and mice.
Fertil. Steril. 45, 1, 69-74.
3. HEINONEN P. et al (1985)
Elevated progesterone levels in serum and ovarian venous blood in patients with ovarian tumors.
Acta Obstet.Gynecol. Scand. 64, 649-652.
4. JANSSEN-CASPERS H. et al (1986)
Diagnosis of luteinized unruptured follicle by ultrasound and steroid hormone assays in peritoneal fluid : a comparative study.
Fertil. Steril.,46, 5, 823-827.
5. KO-ENHUANG et al. (1986)
Serum progesterone levels in women treated with human menopausal gonadotropin and human chorionic gonadotropin for in vitro fertilization.
Fertility and Sterility, 46, 5, 903-906.
6. KRUITWAGEN R. et al (1987)
Oestradiol-17b and progesterone level changes in peritoneal fluid around the time of ovulation.
British Journal of Obstetrics and Gynecology, 94, 548-553.
7. MATTHEWS C. (1986)
Serum progesterone levels as an aid in the diagnosis of ectopic pregnancy.
Obstetrics and Gynecology, 68, 390-394.
8. OSKOWITZ S. et al (1986)
Luteal phase serum progesterone levels after follicle aspiration with and without clomiphene citrate treatment.
Fertil. Steril., 46, 3, 461-465.

XVIII. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

	ΚΡΟΥΣΕΙ Σ "TOTAL" μl	ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤ ΕΣ μl	ΔΕΙΓΜΑ (TA) ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ μl
Βαθμονομητές (0 έως 6) Δείγματα, οροί ελέγχου Ιχνηθέτης	- - 500	50 - 500	- 50 500
Επώαση	2 ώρες στους 37 ± 2°C σε υδατόλουτρο		
Διαχωρισμός Διάλυμα πλύσης εργασίας Διαχωρισμός	-	Αναρρόφηση 3,0 ml Αναρρόφηση	
Μέτρηση	Μέτρηση σωληναρίων επί 60 δευτερόλεπτα		

Αρ. καταλόγου DIASource: KIP1458	Αριθμός P.I.: 1700637/eI	Αρ. αναθεώρησης: 140617/1
-------------------------------------	-----------------------------	------------------------------

Ημερομηνία αναθεώρησης: 17/06/2014

Przed zastosowaniem należy przeczytać cały protokół.

PROG-RIA-CT

I. PRZEZNACZENIE

Oznaczenie radioimmunologiczne do ilościowego pomiaru *in vitro* ludzkiego progesteronu (PROG) w ludzkiej surowicy.

II. INFORMACJE OGÓLNE

- A. **Nazwa firmowa:** DIASource PROG-RIA-CT
- B. **Numer katalogowy:** KIP1458: 96 oznaczeń
- C. **Wyprodukowano przez:** DIASource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgia

Dział pomocy technicznej oraz informacje dotyczące zamówień:

Tel.: +32 (0)10 84.99.11

Faks: +32 (0)10 84.99.91

III. INFORMACJE KLINICZNE

A. Aktywność biologiczna

Progesteron jest 21-węglowym hormonem sterydowym o masie cząsteczkowej 314,5, syntetyzowanym z cholesterolu przez pregnenolon w komórkach warstwy ziarnistej i komórkach osłonki ciała żółtego pod wpływem LH. Hormon wytwarzany jest głównie w jajnikach i łożysku oraz, zarówno u kobiet, jak i mężczyzn, w korze nadnerczy. Progesteron jest szybko metabolizowany w wątrobie. Stężenia substancji we krwi obwodowej są bardzo niskie w fazie folikularnej, następnie obserwuje się ich gwałtowny wzrost w fazie lutealnej cyklu miesięczkowego, natomiast szczytowe wartości osiągane są pomiędzy 5. a 10. dniem po owulacyjnym szczycie LH.

B. Zastosowania kliniczne

Stężenia progesteronu w surowicy, które są niskie w fazie folikularnej, wzrastają w fazie lutealnej cyklu miesięczkowego. Jeżeli nie wystąpi ciąża, poziomy progesteronu maleją na 4 dni przed kolejnym okresem miesięczkowym. Dlatego pomiar stężeń progesteronu jest dobrze opracowaną metodą wykrywania owulacji. Pomiary progesteronu odgrywają istotne znaczenie w wielu innych przypadkach:

- kontrola skuteczności indukcji owulacji;
- monitorowanie transferu embrionalnego i leczenia podtrzymującego poziom progesteronu;
- wykrywanie pacjentek z ryzykiem poronienia samoistnego w początkowym okresie ciąży;
- pomoc w rozpoznawaniu ciąży ektopowej;
- wykrywanie wszystkich guzów jajnika (złośliwych i łagodnych) u kobiet w okresie pomenopauzalnym;
- diagnostyka zespołu luteinowanego, niepękniętego pęcherzyka (luteinized unruptured follicle (LUF)) (poprzez ocenę dawkowania 17-beta-estradolu i progesteronu w płynie otrzewnowym);
- określenie profili sterydowych płynów pęcherzykowych i stosunku E2/PROG, co pozwala stwierdzić prawidłową lub zaburzoną indukcję owulacji (zespół pustego pęcherzyka może być związany z zaburzoną indukcją owulacji).

IV. ZAGADNIENIA DOTYCZĄCE METODY

W celu pomiaru substancji obecnej w próbce lub w kalibratorze odpowiednia liczba cząsteczek sterydu oznakowanych ¹²⁵I współzawodniczy ze sterydem o określonej liczbie miejsc na przeciwciałach unieruchomionych na ścianie próbówki polistyrenowej. Nie jest wymagana ani ekstrakcja, ani chromatografia. Po dwóch godzinach inkubacji w łaźni wodnej o temperaturze 37°C reakcja współzawodnictwa jest przerywana przez aspirację. Następnie próbówki są płukane za pomocą 3 ml roztworu płuczącego i аспиrowane. Wykreślana jest krzywa kalibracyjna, a stężenia progesteronu w próbkach są określone na podstawie nałożenia dawki na krzywą kalibracyjną.

V. ODCZYNNIKI DOSTARCZONE

Odczynniki	Zestaw 96 oznaczeń	Kolor	Rekonstytucja			
 Probówki opłaskzczone anty-PROG	2 x 48	srebrny	Gotowe do zastosowania.			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> ZNACZNIK IZOTOPOWY: PROG oznakowany jodem ¹²⁵ (poziom HPLC) w buforze szczawianowym z kazeiną bydlęcą i azydkiem (<0,1%)	Ag	¹²⁵ I	1 fiolka 55 ml 220 kBq	czerwony	Gotowy do zastosowania.	
Ag	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Kalibrator zerowy w ludzkiej surowicy z dodatkiem azydku (0,5%).	CAL	0	1 fiolka 1 ml	żółty	Gotowy do zastosowania.	
CAL	0					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibratory - N = od 1 do 6 (dokładne wartości na etykietach fiolek) w ludzkiej surowicy z dodatkiem azydku (0,5%).	CAL	N	6 fiolek 0,5 ml	żółty	Gotowy do zastosowania.	
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 70 x wodą destylowaną (wykorzystać mieszadło magnetyczne).
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Kontrolne - N = od 1 do 2 w surowicy ludzkiej z tymolem	CONTROL	N	2 fiołki materiał liofilizow any	srebrny	Dodać 0,5 ml wody destylowanej	
CONTROL	N					

Uwaga: Do rozcieńczania próbek używać kalibratora zerowego.

VI. MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE

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

- 1. Woda destylowana
- 2. Pipety do dozowania: 50 µl i 500 µl (zaleca się korzystanie z dokładnych pipet z jednorazowymi końcówkami plastikowymi)
- 3. Mieszadło wirowe
- 4. Mieszadło magnetyczne
- 5. Łaźnia wodna o temperaturze 37°C ± 2°C
- 6. Strzykawka automatyczna o objętości 5 ml (rodzaj Cornwall) do płukania
- 7. Układ do aspiracji (opcjonalnie)
- 8. Może być wykorzystywany jakikolwiek licznik gamma odpowiedni do pomiaru ¹²⁵I (minimalny uzysk 70%)

VII. PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

- A. **Kontrole:** Kontrole należy rekonstruować przy użyciu 0,5 ml wody destylowanej.
- B. **Roboczy roztwór płuczący:** Właściwą objętość roboczego roztworu płuczącego należy przygotować dodając 69 objętości wody destylowanej do 1 objętości roztworu płuczącego (70 x). Do homogenizacji należy wykorzystać mieszadło 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 kontrole zachowują trwałość przez 1 tydzień, pod warunkiem przechowywania w temperaturze od 2 do 8°C. W razie konieczności przechowywania przez dłuższy okres należy przygotować niewielkie objętości kontroli, co pozwala przechowywać je w temperaturze -20 °C przez 3 miesiące. Unikać powtarzanych cykli zamrażania-odmrażania.
- 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 48 godzin, zaleca się przechowywanie w temperaturze -20°C.
- Unikać powtarzanych cykli zamrażania-odmrażania.

X. PROCEDURA

- A. **Uwagi dotyczące obsługi**
Nie wolno wykorzystywać składników zestawu po upływie podanej daty ważności.
Nie wolno mieszać materiałów pochodzących z różnych serii zestawów.
Przed wykorzystaniem wszystkie odczynniki powinny osiągnąć temperaturę pokojową. **Należy szczególnie zwrócić uwagę na to, aby znacznik był w temperaturze pokojowej.** 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**
 1. Dla każdego kalibratora, próbki i kontrole należy oznaczyć opłaskzczone próbówki w badaniach podwójnych. W celu określenia całkowitych zliczeń należy oznaczyć 2 standardowe próbówki.
 2. Szybko wymieszać wirując: kalibratory, próbki i kontrole, i dozować po 50 µl każdej substancji do odpowiednich próbówek.
 3. Do każdej próbówki, w tym do próbek nieopłaskzczonych do całkowitego zliczania, dodać po 500 µl PROG oznakowanego jodem¹²⁵.
 4. Delikatnie potrząsnąć statywem w celu uwolnienia uwięzionych pęcherzyków powietrza.
 5. Inkubować przez dwie godziny w łaźni wodnej o temperaturze 37°C.
 6. Aspirować zawartość każdej próbówki (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania). Aby usunąć cały płyn należy upewnić się, że plastikowa końcówka aspiratora osiągnęła dno opłaskzczonej próbówki.
 7. Przepłukać próbówki przy użyciu 3 ml roboczego roztworu płuczącego (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania) i аспиrować zawartość. W trakcie dodawania roboczego roztworu płuczącego należy unikać wytwarzania piany.
 8. Pozostawić próbówki w pozycji stojącej do góry na dwie minuty i аспиrować pozostałe krople płynu.
 9. Zliczać próbówki w liczniku gamma przez 60 sekund.

XI. OBLICZANIE WYNIKÓW

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

B/B0(%) = $\frac{\text{Liczba zliczeń (dla kalibratora lub próbki)}}{\text{Liczba zliczeń (dla kalibratora zerowego)}} \times 100$

3. Na 3 arkuszach półlogarytmicznych lub papierze milimetrowym wykreślić wartości (B/B0(%)) dla każdego punktu kalibratora jako funkcję stężenia PROG 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 PROG w próbkach z krzywej kalibracyjnej.
6. Dla każdego oznaczenia należy sprawdzić odsetek całkowitego związanego znacznika izotopowego przy braku nieoznakowanego PROG (B0/T).

XII. PRZYKŁAD DANYCH TYPOWYCH

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

PROG		cpm	B/Bo (%)
Zliczanie całkowite		86718	
Kalibrator	0,00 ng/ml	33822	100,0
	0,12 ng/ml	30680	90,7
	0,90 ng/ml	21353	63,1
	3,00 ng/ml	13831	40,9
	7,90 ng/ml	7899	23,4
	15,00 ng/ml	4849	14,3
	36,00 ng/ml	2180	6,5

XIII. DZIAŁANIE I OGRANICZENIA

A. Granica wykrywania

Dwadzieścia kalibratorów zerowych oznaczano wraz z zestawem innych kalibratorów.

Granica wykrywania, zdefiniowana jako odmienne stężenie dwóch odchyłeń standardowych poniżej przeciętnej wartości zliczania przy wiązaniu zerowym, kształtowała się na poziomie 0,05 ng/ml.

B. Swoistość

Odsetek reaktywności krzyżowej oceniany przez porównanie stężenia prowadzącego do 50% zahamowania przedstawia się następująco:

Związek	Reaktywność krzyżowa (%)
20- α -dihydroprogesteron	0,03
20- β -dihydroprogesteron	3,27
5- α -pregnan-3,20 dion	3,46
17- α -hydroksyprogesteron	1,50
Pregnenolon	0,39
Kortyzol	0,003
21-deoksykortyzol	0,01
11-deoksykortyzol	0,01
Kortykosteron	0,30
11-Deoksykortykosteron	0,83
Androstenodion	0,12
Testosteron	0,03
Estradiol	< 0,0012
Danazol	< 0,0012
DHEA	0,02
DHEA-SO4	0,005

Nota: w tej tabeli przedstawiono reaktywność krzyżową dla anty-PROG

Oceniono wpływ potencjalnie zakłócających substancji na próbki za pomocą testu DIASource PROG-RIA-CT. Przetestowano różne poziomy hemoglobiny, bilirubiny, triglicerydu i bilirubiny skoniugowanej na próbkach z różnymi stężeniami PROG. Kryterium przyjęcia było zakłócenie mniejsze niż 10%. Przebadane substancje nie wpływały na przebieg testu DIASource PROG-RIA-CT.

Substancja	PROG (ng/ml)	Stężenie interferentu (mg/dl)	Średni % odchylenia
Hemoglobina	1,05	250	-6%
		500	
	2,46	250	
		500	
Bilirubina nieskoniugowana	1,05	50	-9,2%
		100	
	2,46	50	
		100	
Bilirubina koniugowana	1,05	50	1,5%
		100	
	2,46	50	
		100	
Trigliceryd	1,07	5	6,7%
		10	
		20	
		40	
	3,32	5	
		10	
		20	
		40	

C. Precyzja

PRECYZYJA W SERII

PRECYZYJA MIĘDZY SERIAMI

Surowica	N	<X> $\pm$ SD (ng/ml)	CV (%)	Surowica	N	<X> $\pm$ SD (ng/ml)	CV (%)
A	20	1,27 $\pm$ 0,07	5,2	A	11	1,17 $\pm$ 0,10	8,6
B	20	4,08 $\pm$ 0,16	4,0	B	11	3,93 $\pm$ 0,26	6,5

SD: Odchylenie standardowe; CV: Współczynnik zmienności

D. Dokładność

BADANIE ROZCIEŃCZENIA

Próbka	Rozcieńczenie	Stęż. teoretyczne (ng/ml)	Stęż. zmierzone (ng/ml)
A	1/1	-	33,86
	1/2	16,93	17,16
	1/4	8,47	8,20
	1/8	4,23	3,88
	1/16	2,12	1,96
	1/32	1,06	1,11
	1/64	0,53	0,57

Próbki zostały rozcieńczone za pomocą kalibratora zerowego.

BADANIE ODZYSKU

Dodano PROG (ng/ml)	Zmierzone stężenia PROG		Odzysk (%)
	Całkowity (ng/ml)	Wygaszony (ng/ml)	
0	2,01	-	-
22,23	23,96	21,95	98,7%
8,14	10,60	8,59	105,5%
2,68	4,77	2,76	103,0%
0,86	3,05	1,04	120,9%
0,31	2,30	0,29	93,5%

Współczynnik konwersji:

z ng/ml na nmol/l : x 3,18
z nmol/l na ng/ml : x 0,314

Stężenia kalibratora są przygotowane względem wewnętrznego materiału referencyjnego.

E. Opóźnienie pomiędzy oznaczeniem ostatniego kalibratora i dozowaniem próbki

Jak wykazano, wyniki pomiaru pozostają dokładne nawet wówczas, gdy od momentu dodania kalibratora do opłaszczonych próbek minęło 40 minut.

OPÓŹNIENIE

Surowica ng/ml	0'	10'	20'
1	1,5	1,5	1,5
2	9,4	10,8	9,3
3	20,6	20,3	20,4
4	1,2	0,9	1,0

XIV. WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI

- Jeżeli wyniki uzyskane dla kontroli 1. i 2. nie znajdują się w zakresie określonym na etykiecie fiołki, wyniki nie mogą zostać wykorzystane dopóki nie uda się znaleźć właściwego wyjaśnienia tego odchylenia.
- Jeżeli to konieczne, każde laboratorium może wykonać własne próbki zbiorcze w celach kontrolnych, które powinny być zamrożone w małych objętościach.
- 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.

	Stężenie zakres (ng/ml)	Liczba osobników
Mężczyźni	0,60 – 2,11	50
Kobiety		
. Faza folikularna	0,70 – 1,78	34
. Faza owulacji	0,79 – 3,95	29
. Faza lutealna	4,57 – 17,56	39
. Menopauza	0,43 – 2,13	50

(*) 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 ani 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 usunięte zgodnie z procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa radiologicznego. Odpady radioaktywne muszą być usuwane zgodnie z miejscowymi przepisami i ogólnie przyjętymi wytycznymi obowiązującymi w laboratorium. Przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa radiologicznego zapewnia wystarczające zabezpieczenie.

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

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

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

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

XVII. BIBLIOGRAFIA

1. ALPER M. et al (1987)
Comparison of follicular fluid hormones in patients with one or two ovaries participating in a program of in vitro fertilization.
Fertil. and Steril. 48, 1, 94-97
2. GIDLEY-BAIRD A. et al. (1986)
Failure of implantation in human in vitro fertilization and embryo transfer patients : the effects of altered progesterone/estrogen ratios in humans and mice.
Fertil. Steril. 45, 1, 69-74.
3. HEINONEN P. et al (1985)
Elevated progesterone levels in serum and ovarian venous blood in patients with ovarian tumors.
Acta Obstet.Gynecol. Scand. 64, 649-652.
4. JANSSEN-CASPERS H. et al (1986)
Diagnosis of luteinized unruptured follicle by ultrasound and steroid hormone assays in peritoneal fluid : a comparative study.
Fertil. Steril.,46, 5, 823-827.
5. KO-ENHUANG et al. (1986)
Serum progesterone levels in women treated with human menopausal gonadotropin and human chorionic gonadotropin for in vitro fertilization.
Fertility and Sterility, 46, 5, 903-906.
6. KRUITWAGEN R. et al (1987)
Oestradiol-17b and progesterone level changes in peritoneal fluid around the time of ovulation.
British Journal of Obstetrics and Gynecology, 94, 548-553.
7. MATTHEWS C. (1986)
Serum progesterone levels as an aid in the diagnosis of ectopic pregnancy.
Obstetrics and Gynecology, 68, 390-394.
8. OSKOWITZ S. et al (1986)
Luteal phase serum progesterone levels after follicle aspiration with and without clomiphene citrate treatment.
Fertil. Steril., 46, 3, 461-465.

XVIII. PODSUMOWANIE PROTOKOŁU

	CAŁKOWITA LICZBA ZLICZEŃ μl	KALIBRATORY μl	PRÓBK KONTROLE μl
Kalibratory (0 - 6)	-	50	-
Próbki, kontrole	-	-	50
Znacznik izotopowy	500	500	500
Inkubacja	2 godzin w łaźni wodnej o temperaturze 37°C		
Rozdzielenie	-	Aspiracja	
Roboczy roztwór płuczący	-	3,0 ml	
Rozdzielenie	-	Aspiracja	
Zliczanie	Zliczanie próbek przez 60 sekund		

Nr katalogowy DIASource KIP1458	Numer P.I. 1700673/pl	Nr aktualizacji : 140617/1
------------------------------------	--------------------------	-------------------------------

Data wydania: 2014-06-17



Прочетете целия протокол преди употреба

PROG-RIA-CT

I. УПОТРЕБА

Имунорадиометричен набор за количествени измервания *in vitro* на човешки прогестерон (PROG) в серум.

II. ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

- A. Патентовано име: DIAsource PROG-RIA-CT Kit
- B. Каталоген номер: KIP1458: 96 теста
- C. Произведено от: DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue du Bosquet, 2, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium.

За техническа помощ или поръчка:
Тел.: +32 (0)10 84.99.11 Факс: +32 (0)10 84.99.91

III. КЛИНИЧЕН ПРЕГЛЕД

A. Биологична активност

Прогестеронът е С-21 стероиден хормон (с молекулно тегло: 314.5), който се синтезира от холестерола през прегненолон в гранулоза и тека клетките на жълтото тяло под въздействието на LH. Основно той се произвежда в яйчниците и плацентата; но малки количества се произвеждат и при мъжете, и при жените и в кората на надбъбречните жлези. Прогестеронът се метаболизира бързо в черния дроб. Кръвните му нива са много ниски през фоликуларната фаза, докато през лутеиновата фаза на менструалния цикъл се наблюдава стръмно повишаване и достигане на максимум около 5 до 10 дена сред пика на LH в средата на цикъла.

B. Клинично приложение

Серумните нива на прогестерон, които са ниски през фоликуларната фаза, се увеличават през лутеиновата фаза на менструалния цикъл. Ако не настъпи бременност, нивата на прогестерон намаляват 4 дена преди следващия менструален цикъл. Измерването на нивата на прогестерона представлява доказан метод за установяване на овулация. Но съществуват и редица други случаи, при които измерването на нивата на прогестерона представлява особен интерес.

- За проверка на ефективността на овулаторната индукция;
- За проследяване трансплантацията на ембриони и прогестерон-заместваща терапия;
- За детекция на пациенти с риск от спонтанен аборт в началото на бременността;
- За подпомагане диагностиката на ектопична бременност;
- За откриване на всякакви овариални тумори (доброкачествени и злокачествени) при жени след менопауза;
- За диагностика на лутеинизиран неруптурирал фоликул по дозата на нивата на 17 бета-естрадиол и прогестерон в перитонеалната течност;
- Стероидните профили на фоликуларните течности и съотношението на E2/PROG позволява установяването на нормална или дисфункционална овулаторна индукция. (Синдромът на празния фоликул може да е симптом на дисфункционална овулаторна индукция).

IV. ПРИНЦИПИ НА МЕТОДА

Определено количество стероид, натоварен с ¹²⁵I, се конкурира със стероида, който трябва да се измери в пробата или в калибратора за определено количество антитела, които са имобилизирани към стената на полистиреновата епруветка. Не е необходима нито екстракция, нито хроматография. След 2 часа инкубация във водна баня при 37 градуса С, конкурентната реакция приключва с аспирация. След това епруветките се измиват с 3 ml разтвор за измиване и се аспирират наново. Прави се калибрационна крива и се определят концентрациите на прогестерон чрез интерполация на дозата от калибрационната крива.

V. ИЗПОЛЗВАНИ РЕАГЕНТИ

Реагенти	Количество 96 теста	Цветен код	Приготвяне			
 Епруветки, покрити с анти-PROG	2 x 48	сребърен	Готов за употреба			
<table border="1"><tr><td>Ag</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> ПРОСЛЕДЯВАЩО ВЕЩЕСТВО: PROG, натоварен с ¹²⁵ йод (HPLC скала) в ацетатен буфер с биволски казеин и азид (<0.1%)	Ag	¹²⁵ I	1 флакон 55 ml 220 kBq	червен	Готов за употреба	
Ag	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Нулев Калибратор в човешки серум и азид (0,5%)	CAL	0	1 флакон 1 ml	жълт	Готов за употреба	
CAL	0					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Калибратор - N = 1 до 6 (виж точните стойности на етикета на флаконите) в човешки серум и азид (0.5%)	CAL	N	6 флакона 0,5 ml	жълт	Готов за употреба	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Измиващ разтвор (TRIS- HCl)	WASH	SOLN	CONC	1 флакон 10 ml	кафяв	Разредете 70x с дестилирана вода (използвайте магнитен сепаратор)
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Контроли 1 и 2 в човешки серум с тимол	CONTROL	N	2 флакона лиофилизирани	сребърен	Добавете 0,5 ml дестилирана вода	
CONTROL	N					

Забележка: Използвайте нулевия калибратор за серумните разреждания.

VI. СРЕДСТВА, КОИТО НЕ СЕ ОСИГУРЯВАТ

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

- 1. Дестилирана вода
- 2. Пипети от: 50 µl и 500 µl (препоръчва се използването на прецизни пипети с накрайници за еднократна употреба).
- 3. Завихрящ смесител
- 4. Магнитен сепаратор
- 5. Водна баня с температура 37 градуса С
- 6. 5 ml автоматична спринцовка (тип Cornwall) за измиване
- 7. Аспирационна система (по избор).
- 8. Всякакъв гама брояч, който може да измери употребеното количество ¹²⁵I (минимален капацитет от 70%)

VII. ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТА

A. Контроли: Реконституирайте контролите с 0,5 ml дестилирана вода.
B. Работен измиващ разтвор: Подгответе адекватен обем от работния измиващ разтвор чрез добавянето на 69 обема дестилирана вода към 1 обем от измиващия разтвор (70x). Използвайте магнитен сепаратор, за да хомогенизирате. Изхвърлете неупотребеното количество от работния измиващ разтвор в края на деня.

VIII. СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

- Всички компоненти на кита са стабилни до датата на срока на годност, посочен на опаковката, при температура на съхранение от 2 °C до 8°C преди отваряне или реконституиране.
- След реконституиране, калибраторите и контролите са стабилни за срок от 7 дни при температури 2-8°C. За по-дълги срокове на съхранение, се определя кратно и се съхранява при температура -20 °C за максимум 3 месеца. Избягвайте последващи цикли на замразяване-размразяване.
- Прясно приготвения Работен измиващ разтвор трябва да бъде използван същия ден.
- След първата употреба, трейсера е стабилен до изтичане срока на годност, ако се съхранява в оригиналния добре затворен флакон при температури 2-8°C.
- Промени във физическия вид на реагентите на кита индицират нестабилност или негодност.

IX. СЪБИРАНЕ НА ПРОБИТЕ И ОБРАБОТКА

- Серумът трябва да се съхранява при температури 2-8°C.
- Ако тестът не се направи в рамките на 48 часа, се препоръчва съхранение при температура -20°C.
- Избягвайте последващи цикли на замразяване-размразяване.

X. ПРОЦЕДУРА

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

B. Процедура

1. Означете две по две покритите епруветки за всеки калибратор, контрола и проба. За определяне на общия брой импулси, обозначете 2 нормални епруветки.
2. Разклатете за кратко време калибраторите, контролите и пробите и разпределете по 50 µl от всяко в съответните епруветки.
3. Разпределете 500 µl PROG, натоварен с ¹²⁵йод във всяка епруветка, включително в непокрытите епруветки за общото преброяване.
4. Разклатете нежно с ръка контейнера с епруветките, за да освободите всяко останало въздушно мехурче.
5. Инкубирайте 2 часа във водна баня с температура 37 градуса С.
6. Аспирирайте съдържанието на всяка епруветка (освен епруветките за определяне на общия брой импулси). Уверете се, че пластмасовият край на аспиратора достига дъното на покритата епруветка, за да може да отстрани цялата течност.
7. Измийте епруветките с 3 ml Работен Разтвор за измиване (с изключение на общия брой) и аспирирайте. Избягвайте разпенване по време на добавянето на Работния Разтвор за измиване.
8. Оставете епруветките в изправено положение за две минути и аспирирайте останалите капки течност.
9. Отчетете епруветките в гама брояч за 60 секунди.

XI. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

1. Изчислете средното аритметично на резултатите, получени от две по две епруветките.
2. Изчислете свързващата радиоактивност като процент от свързването, определен при нулевата калибрационна точка (0) според следната формула:

$$B/B_0 (\%) = \frac{\text{брой (Калибратор и проба)}}{\text{брой (Нулев Калибратор)}} \times 100$$

3. Използвайки 3 циклична семи-логаритмична или logit-log графична хартия, нанесете (B/B0(%)) стойностите за всяка калибрационна точка като функция на PROG концентрацията на всяка калибрационна точка. Отхвърлете очевидните отклонения.
4. Компютърно асистирани методи също могат да бъдат използвани, за да се построи калибрационната крива. Ако се използва автоматичен метод на обработка на резултатите, се препоръчва подходяща 4-параметрова логистична крива.
5. Чрез интерполация на (B/B0 (%)) стойностите от пробата се определят PROG концентрациите на пробите от калибрационната крива.
6. Процентът на общото проследяващо вещество, свързано при липса на ненатоварен PROG (B0/T), трябва да се провери за всяко изследване.

XII. ХАРАКТЕРНИ ДАННИ

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

PROG	срт	B/Bo (%)
Общ брой	86718	
Калибратор		
0,00 ng/ml	33822	100,0
0,12 ng/ml	30680	90,7
0,90 ng/ml	21353	63,1
3,00 ng/ml	13831	40,9
7,90 ng/ml	7899	23,4
15,00 ng/ml	4849	14,3
36,00 ng/ml	2180	6,5

XIII. ИЗПЪЛНЕНИЕ И ОГРАНИЧЕНИЯ

A. Определен лимит

Двадесет нулеви калибратора са били изпитани заедно с комплект от други калибратори. Определения лимит, дефиниран като явната концентрация на две стандартни отклонения над средния брой при нулево свързване, е бил 0,05 ng/ml.

B. Специфичност

Процентът на кръстосана реакция, преценен чрез сравняване с концентрацията при 50% потискане, е съответно:

Съединение	Кръстосана реактивност (%)
20-α-Дихидропрогестерон	0,03
20-β-Дихидропрогестерон	3,27
5-α-прегнан-3,20 дион	3,46
17-α-хидроксипрогестерон	1,50
Прегненолон	0,39
Кортизол	0,003
21-деоксикортизол	0,01
11- деоксикортизол	0,01
Кортикостерон	0,30
11-деоксикортикостерон	0,83
Андростендион	0,12
Тестостерон	0,03
Естрадиол	< 0,0012
Даназол	< 0,0012
DHEA	0,02
DHEA-сулфат	0,005

Забележка: тази таблица показва кръстосаната реактивност за анти PROG

Оценено е влиянието на потенциалните пречещи вещества върху проби при използване на теста Diasource PROG-RIA-CT. Тествани са различни нива на хемоглобин, билирубин, триглицерид и конюгиран билирубин върху проби с различни PROG концентрации. Нашият критерий за приемане беше наличието на смущение по-малко от 10 %. Тестваните вещества не повлияват на изпълнението на теста Diasource PROG-RIA-CT.

Вещество	PROG (ng/mL)	Концентрация на интерферент (mg/dL)	Среден % вариация
Хемоглобин	1,05	250	-6%
		500	
	2,46	250	
		500	
Конюгиран билирубин	1,05	50	-9,2%
		100	
	2,46	50	
		100	
Конюгиран билирубин	1,05	50	1,5%
		100	
	2,46	50	
		100	
Триглицерид	1,07	5	6,7%
		10	
		20	
		40	
	3,32	5	
		10	
		20	
		40	

B. Прецизност

ПО ВРЕМЕ НА ИЗПИТВАНЕТО				МЕЖДУ ИЗПИТВАНЕТО			
Серум	N	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)	Серум	N	<X> ± SD (ng/ml)	CV (%)
A	20	1,27 ± 0,07	5,2	A	11	1,17 ± 0,10	8,6
B	20	4,08 ± 0,16	4,0	B	11	3,93 ± 0,26	6,5

SD : Стандартно отклонение; CV: Коефициент на вариация

D. Точност

ТЕСТ С РАЗРЕЖДАНЕ			
Проба	Разреждане	Теоретична концентрация (ng/ml)	Измерена концентрация (ng/ml)
A	1/1	-	33,86
	1/2	16,93	17,16
	1/4	8,47	8,20
	1/8	4,23	3,88
	1/16	2,12	1,96
	1/32	1,06	1,11
	1/64	0,53	0,57

Пробите бяха разредени с нулев калибратор

ВЪЗСТАНОВИТЕЛЕН ТЕСТ			
Добавен PROG (ng/ml)	Измерена концентрация PROG Общо (ng/ml)	Празна (ng/ml)	Възстановяване (%)
0	2,01	-	-
22,23	23,96	21,95	98,7 %
8,14	10,60	8,59	105,5 %
2,68	4,77	2,76	103,0 %
0,86	3,05	1,04	120,9 %
0,31	2,30	0,29	93,5 %

Конверсионен фактор:

От ng/ml до pmol/L : x 3,18
От pmol/L до ng/ml : x 0,314

Концентрациите на калибратора могат да се проследят до изготвяне на вътрешен еталонен образец.

D. Закъснение

Както е показано по-долу, резултатите от изпитването остават точни дори когато пробата е разпределена 40 минути след като калибраторът е бил добавен към покритата епруветка.

ЗАКЪСНЕНИЕ

Серум ng/ml	0'	10'	20'
1	1,5	1,5	1,5
2	9,4	10,8	9,3
3	20,6	20,3	20,4
4	1,2	0,9	1,0

XIV. ВЪТРЕШЕН КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

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

XV. РЕФЕРЕНТНИ ИНТЕРВАЛИ

Стойностите, показани по-долу, са предоставени само за напътствие; всяка лаборатория трябва да установи свои собствен нормален обхват на стойности.

	Интервал на концентрацията (ng/ml)	Брой субекти
Мъже	0,60 – 2,11	50
Жени		
. Фоликуларна фаза	0,70 – 1,78	34
. овулационна фаза	0,79 – 3,95	29
. Лутеинова фаза	4,57 – 17,56	39
. Менопауза	0,43 – 2,13	50

(*) Обхватът е базиран на 2,5 % и 97,5 % персентила.

XVI. ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Безопасност

Само за *in vitro* диагностика.

Този набор съдържа ¹²⁵I (полуживот: 60 дена), излъчващ йонизиращи X (28 keV) и γ (35.5 keV) лъчения.

Този радиоактивен продукт може да се пренася и да се използва само от оторизирани лица; покупката, съхранението, употребата и размяната на радиоактивни продукти са предмет на законодателството на държавата, на крайния потребител. Този продукт не бива в никакъв случай да се прилага на хора или животни.

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

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

Човешките кръвни компоненти, включени в кита, са били тествани чрез одобрени от Европейски и/или FDA (Американска агенция по храните и лекарствата) методи и са дали отрицателен резултат за HbsAg, анти-HCV, анти-HIV-1 и 2. Няма известен метод, който да дава пълна гаранция за това, че човешките кръвни деривати не пренасят хепатит, СПИН или други инфекции. Ето защо, боравенето със реагентите, серумните или плазмените проби трябва да бъде в съответствие с местните процедури по безопасност.

Всички животински продукти и деривати са били събирани от здрави животни. Волските компоненти са с произход от страни, където BSE (волска серумна енцефалопатия) не е била установявана. Независимо от това, компонентите, съдържащи животински субстанции трябва да се третират като потенциално инфекциозни.

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

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

XVII. БИБЛИОГРАФИЯ

1. ALPER M. et al (1987)
Comparison of follicular fluid hormones in patients with one or two ovaries participating in a program of in vitro fertilization.
Fertil. and Steril. 48, 1, 94-97
2. GIDLEY-BAIRD A. et al. (1986)
Failure of implantation in human in vitro fertilization and embryo transfer patients : the effects of altered progesterone/estrogen ratios in humans and mice.
Fertil. Steril. 45, 1, 69-74.
3. HEINONEN P. et al (1985)
Elevated progesterone levels in serum and ovarian venous blood in patients with ovarian tumors.
Acta Obstet.Gynecol. Scand. 64, 649-652.
4. JANSSEN-CASPERS H. et al (1986)
Diagnosis of luteinized unruptured follicle by ultrasound and steroid hormone assays in peritoneal fluid : a comparative study.
Fertil. Steril., 46, 5, 823-827.
5. KO-ENHUANG et al. (1986)
Serum progesterone levels in women treated with human menopausal gonadotropin and human chorionic gonadotropin for in vitro fertilization.
Fertility and Sterility, 46, 5, 903-906.
6. KRUITWAGEN R. et al (1987)
Oestradiol-17b and progesterone level changes in peritoneal fluid around the time of ovulation.
British Journal of Obstetrics and Gynecology, 94, 548-553.
7. MATTHEWS C. (1986)
Serum progesterone levels as an aid in the diagnosis of ectopic pregnancy.
Obstetrics and Gynecology, 68, 390-394.
8. OSKOWITZ S. et al (1986)
Luteal phase serum progesterone levels after follicle aspiration with and without clomiphene citrate treatment.
Fertil. Steril., 46, 3, 461-465.

XVIII. ОБОБЩЕНИЕ НА ПРОТОКОЛА

	ОБЩА АКТИВНОСТ µl	КАЛИБРАТОРИ µl	ПРОБА (И) КОНТРОЛИ µl
Калибратори (0-6) Проби, контроли Трейсьър	- - 500	50 - 500	- 50 500
Инкубация	2 часа при 37°С във водна баня		
Сепарация Измиващ разтвор Сепарация	- - -	аспирирайте 3,0 ml аспирирайте	
Броење	Отчетете епруветките за 60 секунди		

DIASource каталог номер: KIP1458	P.I. номер: 1700637/bu	Номер на ревизия: 140617/1
-------------------------------------	---------------------------	-------------------------------

Дата на ревизия: 2014-06-17

			Used symbols
			Consult instructions for use
			Storage temperature
			Use by
LOT			Batch code
REF			Catalogue number
CONTROL			Control
IVD			In vitro diagnostic medical device
			Manufacturer
			Contains sufficient for <n> tests
WASH	SOLN	CONC	Wash solution concentrated
CAL	0		Zero calibrator
CAL	N		Calibrator #
CONTROL	N		Control #
Ag	125I		Tracer
Ab	125I		Tracer
Ag	125I	CONC	Tracer concentrated
Ab	125I	CONC	Tracer concentrated
			Tubes
INC	BUF		Incubation buffer
ACETONITRILE			Acetonitrile
SERUM			Serum
DIL	SPE		Specimen diluent
DIL	BUF		Dilution buffer
ANTISERUM			Antiserum
IMMUNOADSORBENT			Immunoabsorbent
DIL	CAL		Calibrator diluent
REC	SOLN		Reconstitution solution
PEG			Polyethylene glycol
EXTR	SOLN		Extraction solution
ELU	SOLN		Elution solution
GEL			Bond Elut Silica cartridges
PRE	SOLN		Pre-treatment solution
NEUTR	SOLN		Neutralization solution
TRACEUR	BUF		Tracer buffer
UJ			Microtiterplate
Ab	HRP		HRP Conjugate
Ag	HRP		HRP Conjugate
Ab	HRP	CONC	HRP Conjugate concentrate
Ag	HRP	CONC	HRP Conjugate concentrate
CONJ	BUF		Conjugate buffer
CHROM	TMB	CONC	Chromogenic TMB concentrate
CHROM	TMB		Chromogenic TMB solution
SUB	BUF		Substrate buffer
STOP	SOLN		Stop solution
INC	SER		Incubation serum
BUF			Buffer
Ab	AP		AP Conjugate
SUB	PNPP		Substrate PNPP
BIOT	CONJ	CONC	Biotin conjugate concentrate
AVID	HRP	CONC	Avidine HRP concentrate
ASS	BUF		Assay buffer
Ab	BIOT		Biotin conjugate
Ab			Specific Antibody
SAV	HRP	CONC	Streptavidin HRP concentrate
NSB			Non-specific binding
2nd Ab			2nd Antibody
ACID	BUF		Acidification Buffer
DIST			Distributor
TRAY			Incubation trays
PMSF			PMSF solution
			Protect from light
STRIP			Dot Strip
SUB			Substrate
EXTR	SOLN	CONC	Extraction Buffer Concentrate
CART			Cartridge
SAV	HRP		Streptavidin HRP
PIPETTE			Pipette
WASH	SOLN		Wash buffer

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

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

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

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

			Χρησιμοποιούμενα σύμβολα
			Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
			Θερμοκρασία αποθήκευσης
			Ημερομηνία λήξης
LOT			Αριθμός παρτίδας
REF			Αριθμός καταλόγου
CONTROL			Πρότυπο ελέγχου
IV D			In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν
			Κατασκευαστής
			Περιεχόμενο επαρκές για «ν» εξετάσεις
WASH	SOLN	CONC	Συμπυκνωμένο διάλυμα έκπλυσης
CAL	0		Μηδενικός βαθμονομητής
CAL	N		Βαθμονομητής #
CONTROL	N		Ορός ελέγχου #
Ag	125I		Ιχνηθέτης
Ab	125I		Ιχνηθέτης
Ag	125I	CONC	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης
Ab	125I	CONC	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης
			Σωληνάρια
INC	BUF		Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης
ACETONITRILE			Ακετονιτρίλιο
SERUM			Ορός
DIL	SPE		Διάλυμα αραιώσης δειγμάτων
DIL	BUF		Ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης
ANTISERUM			Αντιορός
IMMUNOABSORBENT			Ανοσοπροσροφητικό
DIL	CAL		Αραιωτικό βαθμονομητών
REC	SOLN		Διάλυμα ανασύστασης
PEG			Πολυαιθυλενογλυκόλη
EXTR	SOLN		Διάλυμα εκχύλισης
ELU	SOLN		Διάλυμα έκλουσης
GEL			Φύσιγγες πυριτίου Bond Elut
PRE	SOLN		Διάλυμα προεπεξεργασίας
NEUTR	SOLN		Διάλυμα εξουδετέρωσης
TRACEUR	BUF		Ρυθμιστικό διάλυμα
			Πλάκα μικροτιτοδότησης
Ab	HRP		HRP Σύζευγμα
Ag	HRP		HRP Σύζευγμα
Ab	HRP	CONC	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα
Ag	HRP	CONC	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα
CONJ	BUF		Ρυθμιστικό διάλυμα συζεύγματος
CHROM	TMB	CONC	Χρωμογόνος TMB
CHROM	TMB		Διάλυμα χρωμογόνου TMB
SUB	BUF		Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
STOP	SOLN		Ανασχετικό αντιδραστήριο
INC	SER		Ορός επώασης
BUF			Ρυθμιστικό διάλυμα
Ab	AP		AP Σύζευγμα
SUB	PNPP		PNPP υποστρώματος
BIOT	CONJ	CONC	Συμπυκνωμένο αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη
AVID	HRP	CONC	Συμπυκνωμένο διάλυμα αβιδίνης-HRP
ASS	BUF		Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού
Ab	BIOT		αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη
Ab			Ειδικό Αντίσωμα
SAV	HRP	CONC	Συμπυκνωμένη στρεπταβιδίνη συνεζευγμένη με HRP
NSB			μη-ειδική δέσμευση
2nd Ab			2ο Αντίσωμα
ACID	BUF		Ρυθμιστικό Διάλυμα όξινο
DIST			Διανομέας
TRAY			Δίσκοι επώασης
PMSF			Διάλυμα PMSF
			Προστατεύετε από το φως
STRIP			Ταινία κουκκίδων
SUB			Υπόστρωμα
EXTR	SOLN	CONC	Συμπύκνωμα ρυθμ. διαλύματος εκχύλισης
CART			Φύσιγγα
SAV	HRP		Στρεπταβιδίνη HRP
PIPETTE			πιπέτα
WASH	SOLN		Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης

	Używane symbole		
	Przed zastosowaniem zapoznać się z instrukcją		
	Temperatura przechowywania		
	Zużyć przed		
LOT	Kod serii		
REF	Numer katalogowy		
CONTROL	Kontrola		
IVD	Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro		
	Producent		
	Zawartość wystarczająca do <n> testów		
WASH SOLN CONC	Roztwór płuczący stężony		
CAL 0	Kalibrator zerowy		
CAL N	Kalibrator nr		
CONTROL N	Kontrola nr		
Ag 125I	Znacznik izotopowy		
Ab 125I	Znacznik izotopowy		
Ag 125I CONC	Znacznik izotopowy stężony		
Ab 125I CONC	Znacznik izotopowy stężony		
	Probówki		
INC BUF	Wymagana inkubacja buforu		
ACETONITRILE	Acetonitryl		
SERUM	Surowica		
DIL SPE	Rozcieńczalnik próbki		
DIL BUF	Bufor do rozcieńczania		
ANTISERUM	Antysurowica		
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbent		
DIL CAL	Rozcieńczalnik kalibratora		
REC SOLN	Roztwór do rozcieńczania		
PEG	Glikol poli(oksy)etylenowy		
EXTR SOLN	Roztwór ekstrakcyjny		
ELU SOLN	Roztwór elucyjny		
GEL	Kolumny krzemionkowe Bond Elut		
PRE SOLN	Roztwór do przygotowania wstępnego		
NEUTR SOLN	Roztwór neutralizujący		
TRACEUR BUF	Bufor znacznika		
	mikropłytki		
Ab HRP	Koniugat peroksydazy chrzanowej		
Ag HRP	Koniugat peroksydazy chrzanowej		
Ab HRP CONC	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej		
Ag HRP CONC	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej		
CONJ BUF	Bufor do koniugacji		
CHROM TMB CONC	Koncentrat chromogenu TMB (czterometylobenzydyny)		
CHROM TMB	Roztwór chromogenu TMB (czterometylobenzydyny)		
SUB BUF	Bufor substratu		
STOP SOLN	Roztwór zatrzymujący reakcję		
INC SER	Wymagana inkubacja surowicy		
BUF	Bufor		
Ab AP	Koniugat AP (fosfatazy alkalicznej)		
SUB PNPP	p-nitrofenylofosforan substratowy		
BIOT CONJ CONC	Koncentrat koniugatu biotyny		
AVID HRP CONC	Koncentrat peroksydazy chrzanowej z awidyną		
ASS BUF	Bufor do oznaczania		
Ab BIOT	Koniugatu biotyny		
Ab	Przeciwciało swoiste		
SAV HRP CONC	Koncentrat streptawidyny HRP		
NSB	Wiązanie nieswoiste		
2nd Ab	Drugie przeciwciało		
ACID BUF	Bufor zakwaszający		
DIST	Dystrybutor		
TRAY	Tacki do inkubacji		
PMSF	Roztwór fluorku fenylometylosulfonilu (PMSF - z ang. phenylmethylsulfonyl fluoride)		
	Chronić przed światłem		
STRIP	Pasek testowy z antygenami - „Dot Strip”		
SUB	Substrat		
EXTR SOLN CONC	Stężony bufor do ekstrakcji		
CART	Kaseta		
SAV HRP	Streptawidyna sprzężona z peroksydazą chrzanową (HRP - z ang. horseradish peroxidase)		
PIPETTE	Pipeta		
WASH SOLN	Bufor do płukania		

	Използвани символи		
	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	Трейсьр		
Ab 125I	Трейсьр		
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 ратвор		
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 TMB концентрат		
CHROM TMB	Хромогенен TMB 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 анти тяло		
SAV HRP CONC	стрептавидин HRP концентрат		
NSB	не специфично свързване		
2nd Ab	второ анти тяло		
ACID BUF	киселинизиращ буфер		
DIST	Дистрибутор		
TRAY	Панички за инкубация		
PMSF	Разтвор на ФМСФ		
	Да се пази от светлина		
STRIP	Тест лента с маркерни точки		
SUB	Субстрат		
EXTR SOLN CONC	Концентриран екстрактов разтвор		
CART	Касета		
SAV HRP	Стрептавидин HRP		
PIPETTE	Пипети		
WASH SOLN	Измиващ разтвор		