



IRMA ACTH

REF IM2030, B89463

TABLE OF CONTENTS

English	2	Slovenčina (SK)	34
Français (FR)	6	한국어 (KO)	38
Deutsch (DE)	10	Türkçe (TR)	42
Italiano (IT)	14	Русский (RU)	46
Español (ES)	18	Србија (SR)	50
Ελληνικά (EL)	22	APPENDIX	54
Polski (PL)	26		
Čeština (CZ)	30		

ООО «Бекмен Култер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com



IMMUNOTECH s.r.o., Radiova 1, 102 27 Prague 10, Czech Republic

IRMA ACTH

REF IM2030, B89463

IMMUNORADIOMETRIC ASSAY FOR THE IN VITRO DETERMINATION OF ACTH IN HUMAN PLASMA For *in vitro* diagnostic use.

PRINCIPLE

The immunoradiometric assay of corticotropin hormone (ACTH) is a "sandwich" type assay where the ACTH is first modified chemically by succinylation, yielding succinyl ACTH (sACTH).

ACTH is highly conserved in different biological species and is unstable. For these two reasons it is particularly difficult to immunize animals against the human hormone for the production of antibodies with sufficiently high affinity for use in an immunoradiometric assay. The chemical modification of human ACTH by succinylation permits to differentiate it from the endogenous ACTH of the immunized animals and enhances its stability. Monoclonal antibodies with high affinity for succinylated human ACTH were thus obtained. The specificity of the antibodies utilized in the assay requires that the same chemical modification is applied in the case of the samples. This is achieved simply and highly reproducibly with the succinylation reagent furnished in the kit. Furthermore, the chemical modification of the samples stabilizes the ACTH and thus facilitates sample handling.

Three mouse monoclonal antibodies, directed against three different epitopes of the sACTH molecule and not competing with each other, are used in the kit. The modified samples and calibrators are incubated first in tubes coated with two monoclonal antibodies. Following the first incubation, the contents of the tubes are aspirated carefully. A solution containing a third monoclonal antibody, ¹²⁵I-labeled, is then added to each tube. Following a second incubation, the contents of the tubes are aspirated and, after washing twice, bound radioactivity is measured. Unknown values are determined by interpolation from a standard curve. The concentration of ACTH in the samples is directly proportional to the radioactivity.

WARNING AND PRECAUTIONS

General remarks:

- The vials with calibrators and controls should be opened as shortly as possible to avoid excessive evaporation.
- Bring all reagents to room temperature before pipeting.
- Do not mix the reagents from kits of different lots.
- A standard curve must be included with each assay.
- The correct setting of the shaker is very important for the reproducibility of the assay.
- It is recommended to perform the assay in duplicate.
- Each tube must be used only once.

Protection against ionizing radiation

The purchase, possession, utilization, and transfer of radioactive material is subject to the regulations of the country of use. Adherence to the basic rules of radiation safety should provide adequate protection.

- No eating, drinking, smoking or application of cosmetics should be carried out in the presence of radioactive materials.
- No pipeting of radioactive solutions by mouth.
- Avoid all contact with radioactive materials by using gloves and laboratory overalls.
- All manipulation of radioactive substances should be done in an appropriate place, distant from corridors and other busy places.
- Radioactive materials should be stored in the container provided in a designated area.
- A record of receipt and storage of all radioactive products should be kept up to date.
- Laboratory equipment and glassware which are subject to contamination should be segregated to prevent cross-contamination of different radioisotopes.
- Each case of radioactive contamination or loss of radioactive material should be resolved according to established procedures.
- Radioactive waste should be handled according to the rules established in the country of use.

Sodium azide




Some reagents contain sodium azide as preservative. Sodium azide may react with lead, copper or brass to form explosive metal azides. Dispose of the reagents by flushing with large amounts of water through the plumbing system.

Materials of human origin

The materials of human origin, contained in this kit, were found negative for the presence of antibodies to HIV 1 and HIV 2, antibodies to HCV, as well as of Hepatitis B surface antigen (HbsAg). However, they should be handled as if capable of transmitting disease. No known test method can offer total assurance that no virus is present. Handle this kit with all necessary precautions.

All plasma samples should be handled as if capable of transmitting hepatitis or AIDS and waste should be discarded according to the country rules.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Wash Solution (20X)	DANGER		
	H360		May damage fertility or the unborn child.
	P201		Obtain special instructions before use.
	P280		Wear protective gloves, protective clothing and eye/face protection.
	P308+P313		IF exposed or concerned: Get medical advice/attention. Boric Acid 0.1 - 0.3% Sodium Borate Decahydrate 0.1 - 0.3%
Succinylation Reagent	WARNING		
	H302		Harmful if swallowed.
	H319		Causes serious eye irritation.
	H335		May cause respiratory irritation.
	P261		Avoid breathing vapours.
	P280		Wear protective gloves, protective clothing and eye/face protection.
	P304+P340		IF INHALED: Remove person to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing. Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell.
	P312		IF eye irritation persists: Get medical advice/attention.
	P337+P313		Store in a well-ventilated place. Keep container tightly closed. Succinic Anhydride > 95%
	P403+P233		
Calibrators	WARNING		
	H315		Causes skin irritation.
	H319		Causes serious eye irritation.
	H335		May cause respiratory irritation.
	P261		Avoid breathing vapours.
	P271		Use only outdoors or in a well-ventilated area.
	P280		Wear protective gloves, protective clothing and eye/face protection.

P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.
P304+P340	IF INHALED: Remove person to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing.
P305+P351+P338	IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.
P312	Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell.
P332+P313	If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.
P337+P313	If eye irritation persists: Get medical advice/attention.
P362+P364	Take off contaminated clothing and wash it before use.
P403+P233	Store in a well-ventilated place. Keep container tightly closed.
P405	Store locked up.
P501	Dispose of contents/container in accordance with local/national regulations Dimethyl Sulfoxide Succinic Anhydride Potassium Hydroxide

In view of the stabilization of ACTH by succinylation, plasma samples may also be succinylated immediately after centrifugation following the protocol of paragraph Assay procedure. The succinylated samples can then be kept for 7 days at 2-8°C. It is recommended that for longer periods they be kept at below -18°C. It is not necessary to aliquot succinylated samples since succinylated ACTH is relatively insensitive to repeated freezing and thawing.

- If samples have concentrations greater than the highest calibrator, they must be succinylated and then diluted in the zero calibrator.

MATERIALS PROVIDED

All reagents of the kit are stable until the expiry date indicated on the kit label, if stored at 2-8°C. Expiry dates printed on component vial labels apply to the long-term storage by manufacturer only, prior to assembling of the kit. Do not take into account.

Storage conditions for reagents after reconstitution or dilution are indicated in paragraph Procedure.

Kit for determination of ACTH, 100 tubes (Cat #IM2030)

Anti-sACTH monoclonal antibodies-coated tubes: 2 x 50 tubes (ready for use)

¹²⁵I-labeled monoclonal anti-sACTH antibody: one 11 mL vial (ready for use)

The vial contains 814 kBq, at the date of manufacture, of ¹²⁵I-labeled immunoglobulins in liquid form, proteins, sodium azide (<0.1%) and a dye.

Calibrators: five 2 mL vials + one 4 mL of "zero" calibrator (ready for use)

The calibrators contain human serum treated with succinic anhydride. They are thus ready for use and **must not be chemically modified further**.

The calibrator vials contain between 0 to approximately 1,500 pg/mL of synthetic sACTH in human serum and sodium azide (<0.1%). The exact concentration is indicated on each vial label. The calibrators were calibrated against the international standard NIBSC 74/555.

Control serum: 2 vials (lyophilized)

Attention: Due to the instability of the ACTH molecule, two vials of the same control serum are supplied in each kit. After reconstitution, do not conserve the control serum untreated by succinic anhydride, even frozen. Use the second vial for another series.

The vials contain synthetic ACTH lyophilized in human serum. The expected values are in the concentration range indicated on a supplement.

Alkaline solution: one 15 mL vial (ready for use)

The buffer contains sodium azide (<0.1%).

Succinylation reagent: one vial (powder)

The vial contains 600 mg of succinic anhydride.

DMSO (Dimethylsulfoxide): one 3 mL vial (ready for use)

DMSO solution with phenol red. Let DMSO equilibrate at room temperature until completely melted. Mix gently before use.

Wash solution (20x): one 50 mL vial

Concentrated solution has to be diluted before use.

Kit for determination of ACTH, 50 tubes (Cat #B89463)

Anti-sACTH monoclonal antibodies-coated tubes: 1 x 50 tubes (ready for use)

¹²⁵I-labeled monoclonal anti-sACTH antibody: one 11 mL vial (ready for use)

Calibrators: five 2 mL vials + one 4 mL of "zero" calibrator (ready for use)

Control serum: 2 vials (lyophilized)

Alkaline solution: one 15 mL vial (ready for use)

Succinylation reagent: one vial (powder)

DMSO (Dimethylsulfoxide): one 3 mL vial (ready for use)

Wash solution (20x): one 50 mL vial

MATERIALS REQUIRED, BUT NOT PROVIDED

In addition to standard laboratory equipment, the following items are required:

- polypropylene tubes.
- precision micropipets (300 µL; 500 µL).
- semi-automatic pipets (50 µL; 100 µL; 250 µL, 2 mL).

DMSO

WARNING



H227	Combustible Liquid
H315	Causes skin irritation.
H319	Causes serious eye irritation.
H335	May cause respiratory irritation.
P261	Avoid breathing vapours.
P280	Wear protective gloves, protective clothing and eye/face protection.
P304+P340	IF INHALED: Remove person to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing.
P312	Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell.
P337+P313	If eye irritation persists: Get medical advice/attention.
P403+P233	Store in a well-ventilated place. Keep container tightly closed. Dimethyl Sulfoxide > 95%

SDS

Safety Data Sheet is available at techdocs.beckmancoulter.com

SPECIMEN COLLECTION, PROCESSING, STORAGE AND DILUTION

- Sample blood into siliconized glass or plastic tubes containing EDTA. Do not use heparin as anti-coagulant. Do not use non-siliconized glass tubes; they adsorb ACTH.
- Separate plasma as soon as possible by centrifugation at 2-8°C.
- Since ACTH is very unstable, plasma samples must be stored at below -18°C unless the assay is done immediately. Samples should be aliquoted to avoid repeated freezing and thawing.

- vortex type mixer.
- horizontal or orbital shaker.
- aspiration system.
- gamma counter set for 125 iodine.

PROCEDURE

Preparation of reagents

Let all the reagents come to room temperature.

Reconstitution of control sample

The content of one of the two vials is reconstituted with the volume of distilled water indicated on the label. Wait for 10 - 20 min (max) following reconstitution and mix gently to avoid foaming before dispensing. After reconstitution, do not conserve the control serum untreated by succinyl anhydrid, even frozen. Use the second vial for another series.

Reconstitution of the succinylation reagent

The content of the vial is reconstituted with the volume of DMSO indicated on the label. Mix thoroughly before use and visually check complete dissolution of succinyl anhydride. After reconstitution, the reagent is stable at 2-8°C until the expiry date of the kit. The slight tanning, sometimes noted during the storage, does not affect in anyway the performance of the succinylation reagent.

Preparation of wash solution

Pour the content of the vial into 950 mL of distilled water and homogenize. The diluted solution can be stored at 2-8°C until the expiry date of the kit.

Assay procedure

Succinylation of the control serum and samples

Attention: do not succinylate calibrators
To a polypropylene tube, add sequentially in this order
500 µL of sample or control serum 250 µL of alkaline solution 50 µL of succinylation reagent
Vortex immediately Incubate 5 minutes at 18-25°C

Remark 1: The volumes indicated above suffice for an assay in duplicate. For sample non-duplicate assays, sample, alkaline solution and succinylation reagent volumes may be reduced by one-half.

Remark 2: The color indicator of the succinylating reagent must turn yellow which indicates that the reaction has occurred normally. An abnormal reaction is indicated by persistence of the violet color.

Immunological step 1	Immunological step 2	Counting
To antibody-coated tubes, add:	To each tube, add:	Wash twice with 2 mL of wash solution.
300 µL of calibrator, or succinylated sample or succinylated control serum	100 µL of tracer	Count bound cpm (B) and total cpm (T) for 1 min.
Incubate 1 hour at 18-25°C with shaking (>280 rpm).	Incubate 2 hours at 18-25°C with shaking (>280 rpm).	
Aspirate the content of each tube carefully	Aspirate the content of each tube carefully (except the 2 tubes «total cpm»)	

*Add 100 µL of tracer to 2 additional tubes to obtain total cpm.

RESULTS

Results are obtained from the standard curve by interpolation. The curve serves for the determination of ACTH concentrations in samples measured at the same time as the calibrator.

Standard curve

The results in the quality control department were calculated using *spline* curve fit with determined radioactivity ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) on the log vertical axis and analyte concentration of the calibrators on the log horizontal axis (pg/mL).

Other data reduction methods may give slightly different results.

Total activity: 257,224 cpm				
Calibrators	ACTH (pg/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{cal} - cpm_{cal0}$
0	0	182	0.07	-
1	8.2	829	0.32	647
2	26.0	1,847	0.72	1,665
3	87.0	5,505	2.14	5,323
4	451	23,888	9.30	23,706
5	1,322	57,455	22.34	57,273

(Example of standard curve, do not use for calculation)

Samples

For each sample, locate the cpm or B/T value on the vertical axis and read off the corresponding ACTH concentration on the horizontal axis.

Note: The concentration indicated on each calibrator vial already takes into account the sample dilution due to the succinylation step. This dilution must be neglected when calculating the concentration in sample (direct determination on the standard curve).

EXPECTED VALUES

It is suggested that each laboratory establishes its own normal values. The following values obtained with healthy subjects are indicative only.

Number	Average	Median	2.5 th percentile	97.5 th percentile
42	18.5 pg/mL	15 pg/mL	7 pg/mL	41 pg/mL

QUALITY CONTROL

Good laboratory practices imply that control samples be used regularly to ensure the quality of the results obtained. These samples must be processed exactly the same way as the assay samples, and it is recommended that their results be analyzed using appropriate statistical methods.

In case of packaging deterioration or if data obtained show some performance alteration, please contact your local distributor or use the following e-mail address: imunochem@beckman.com

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

(For more details, see the data sheet "APPENDIX")

Sensitivity

Analytical sensitivity: 0.31 pg/mL

Functional sensitivity: 4.82 pg/mL

Specificity

The antibodies used in the immunoassay are highly specific for ACTH. Extremely low cross reactivities were obtained against several related molecules (ACTH 1-24; 1-10; 18-39; 11-24; αMSH and POMC) either in the absence (cross-reactivities) or the presence (interferences) of ACTH.

Precision

Intra-assay

Samples were assayed 25 times in the same series. The coefficients of variation were found below or equal to 10.0%.

Inter-assay

Samples were assayed in duplicate in 10 different series. Coefficients of variation were found below or equal to 10.8%.

Accuracy

Dilution test

High-concentration samples were succinylated and then serially diluted with the zero calibrator. The recovery percentages obtained were between 82.3% and 119%.

Recovery test

Low-concentration samples were spiked with known quantities of ACTH. Samples were then succinylated and assayed. The recovery percentages obtained were between 97.2% and 116%.

Measurement range (from analytical sensitivity to highest calibrator): 0.31 to approximately 1,500 pg/mL.

LIMITATIONS

The non-respect of the instructions in this package insert may affect results significantly.

Results should be interpreted in the light of the total clinical presentation of the patient, including clinical history, data from additional tests and other appropriate information.

Heparin binds to ACTH and must therefore not be used. Samples should therefore be collected on EDTA.

For assays employing antibodies, the possibility exists for interference by heterophile antibodies in the patient sample. Patients who have been regularly exposed to animals or have received immunotherapy or diagnostic procedures utilizing immunoglobulins or immunoglobulin fragments may produce antibodies, e.g. HAMA, that interfere with immunoassays. Such interfering antibodies may cause erroneous results. Carefully evaluate the results of patients suspected of having these antibodies.

IRMA ACTH

REF IM2030, B89463

TROUSSE IMMUNORADIOMETRIQUE POUR LE DOSAGE IN VITRO DE L'ACTH DANS LE PLASMA HUMAIN

Utilisation comme test de diagnostic *in vitro*.

PRINCIPE

Le dosage immunoradiométrique de l'hormone corticotrope (ACTH) est un dosage de type "sandwich" de l'ACTH préalablement modifiée chimiquement par une réaction d'succinylation (sACTH).

L'ACTH est une molécule très bien conservée à travers les espèces et très peu stable. Pour ces deux raisons il est particulièrement difficile d'immuniser des animaux contre l'hormone humaine pour obtenir des anticorps de bonne affinité susceptibles de convenir à un dosage immunoradiométrique. La modification chimique de l'ACTH humaine par succinylation permet de la différencier nettement de l'ACTH endogène des animaux immunisés et la rend plus stable. Des anticorps monoclonaux de haute affinité ont donc été obtenus contre de l'ACTH humaine succinylée. La spécificité des anticorps utilisés dans ce dosage nécessite que cette modification chimique soit reproduite sur les échantillons. Ceci est réalisé de manière très simple et très reproductible par le réactif d'succinylation fourni dans la trousse. De plus, la modification chimique des échantillons stabilise l'ACTH et facilite ainsi leur manipulation.

La trousse utilise trois anticorps monoclonaux de souris dirigés contre trois épitopes différents de la molécule de sACTH, et réagissant sans compétition. Les échantillons modifiés ou les calibrateurs sont d'abord incubés dans des tubes recouverts de deux anticorps monoclonaux. Après une première incubation le contenu des tubes est soigneusement aspiré. Une solution contenant un troisième anticorps monoclonal marqué à l'iode ¹²⁵ est alors distribuée dans chaque tube. A la suite d'une nouvelle incubation, le contenu des tubes est aspiré, et après deux lavages la radioactivité liée est mesurée. Les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de la courbe standard. La quantité de radioactivité fixée est directement proportionnelle à la concentration en ACTH de l'échantillon.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Précautions générales

- Les flacons de calibrateurs et de contrôles doivent être ouverts des temps aussi courts que possible afin d'éviter une évaporation trop importante.
- Equilibrer les réactifs à la température du laboratoire avant utilisation.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents.
- Effectuer simultanément la courbe standard et le dosage des échantillons.
- Le bon réglage de l'agitateur est une condition importante pour la reproductibilité du dosage.
- Il est recommandé de réaliser les dosages en double.
- Chaque tube ne doit être utilisé qu'une seule fois.

Protection contre les rayonnements ionisants

L'achat, la possession, l'utilisation et l'échange de matières radioactives sont soumis aux réglementations en vigueur dans le pays de l'utilisateur. L'application des règles de base de protection contre les rayonnements ionisants assure une protection adéquate. Certaines d'entre elles sont rappelées ci-après :

- Ne pas manger, ni boire, ni fumer, ni appliquer de cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés.
- Ne pas pipeter des solutions radioactives avec la bouche.
- Eviter le contact direct avec tout produit radioactif en utilisant des blouses et des gants de protection.
- Toute manipulation de matières radioactives se fera dans un local approprié, éloigné de tout passage.
- Les produits radioactifs seront stockés dans leur conditionnement d'origine dans un local approprié.
- Un cahier de réception et de stockage de produits radioactifs sera tenu à jour.
- Le matériel de laboratoire et la verrerie qui ont été contaminés doivent être éliminés au fur et à mesure afin d'éviter une contamination croisée de plusieurs isotopes.

- Chaque cas de contamination ou perte de substance radioactive devra être résolu selon les procédures établies.
- Toute mise aux déchets de matière radioactive se fera en accord avec les règlements en vigueur.

Azide de sodium



Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium comme agent conservateur. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb, le cuivre et le laiton et former des azides métalliques explosifs. Lors du rejet de telles solutions à l'évier, laisser couler un volume important d'eau dans les canalisations.

Les produits d'origine humaine

Les produits d'origine humaine contenus dans les réactifs de cette trousse ont subi un dépistage négatif, concernant les anticorps anti-VIH 1, et VIH 2, les anticorps VHC, et l'antigène de surface HBs, mais doivent cependant être manipulés comme des produits infectieux. En effet, aucune méthode connue ne peut assurer l'absence complète de virus, c'est pourquoi il est nécessaire de prendre des précautions lors de leur manipulation.

Tous les échantillons de sang doivent être manipulés comme étant susceptibles de contenir les virus de l'hépatite ou du SIDA et les déchets doivent éliminés selon les réglementations nationales en vigueur.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Wash Solution (20X)	DANGER	
		
H360		Peut nuire à la fertilité ou au fœtus.
P201		Se procurer les instructions avant utilisation.
P280		Porter des gants de protection, des vêtements de protection et un équipement de protection des yeux/du visage.
P308+P313		EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : demander un avis médical/consulter un médecin. Acide borique 0,1 - 0,3% Borate de sodium décahydraté 0,1 - 0,3%
Succinylation Reagent	ATTENTION	
		
H302		Nocif en cas d'ingestion.
H319		Provoque une sévère irritation des yeux.
H335		Peut irriter les voies respiratoires.
P261		Éviter de respirer les vapeurs.
P280		Porter des gants de protection, des vêtements de protection et un équipement de protection des yeux/du visage.
P304+P340		EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer.
P312		Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise.
P337+P313		Si l'irritation des yeux persiste : demander un avis médical/consulter un médecin.

Trousse ACTH IRMA, 100 tubes (Réf. IM2030)

Tubes revêtus d'anticorps monoclonaux anti-sACTH : 2 x 50 tubes (prêts à l'emploi)

Traceur anticorps monoclonal anti-sACTH marqué à l'iode ¹²⁵ : 1 flacon de 11 mL (prêt à l'emploi)

Le flacon contient 814 kBq, en début de lot, d'immunoglobulines marquées sous forme liquide, des protéines, de l'azide de sodium (< 0,1 %) et un colorant.

Calibrateurs sACTH : 5 flacons de 2 mL + 1 flacon "zéro" de 4 mL (prêts à l'emploi)

Les calibrateurs contiennent du sérum humain traité par l'anhydride succinique. Ils sont donc prêts à l'emploi et ne doivent pas être chimiquement modifiés à nouveau.

Les flacons de calibrateurs contiennent entre 0 à environ 1 500 pg/mL de sACTH de synthèse et de l'azide de sodium (<0,1 %). Les concentrations sont indiquées sur l'étiquette de chaque flacon. L'étalonnage a été réalisé par rapport à une solution étalon NIBSC 74/555.

Sérum de contrôle : 2 flacons (lyophilisés)

Attention : En raison de l'instabilité de la molécule d'ACTH, deux flacons du même sérum de contrôle sont fournis dans chaque trousse. Une fois reconstitué, ne pas conserver le sérum de contrôle non traité par l'anhydride succinique, même congelé, pour une utilisation ultérieure. Utiliser le second flacon lors d'une seconde série.

Les flacons contiennent de l'ACTH de synthèse lyophilisée dans du sérum humain. Les valeurs attendues sont comprises dans la fourchette de concentrations indiquée sur une feuille séparée.

Solution alcaline : 1 flacon de 15 mL (prêt à l'emploi)

Le tampon contient de l'azide de sodium (< 0,1 %).

Réactif de succinylation : un flacon (poudre)

Le flacon contient 600 mg d'anhydride succinique.

DMSO (Diméthylsulfoxyde) : 1 flacon de 3 mL (prêt à l'emploi)

Solution DMSO avec phénol rouge. Laisser le DMSO s'équilibrer à température ambiante jusqu'à ce qu'il soit complètement fondu. Mélanger avec précaution avant utilisation.

Solution de lavage (20x) : 1 flacon de 50 mL

Solution concentrée, à diluer avant usage.

Trousse ACTH IRMA, 50 tubes (Réf. B89463)

Tubes revêtus d'anticorps monoclonaux anti-sACTH : 1 x 50 tubes (prêts à l'emploi)

Traceur anticorps monoclonal anti-sACTH marqué à l'iode ¹²⁵ : 1 flacon de 11 mL (prêt à l'emploi)

Calibrateurs sACTH : 5 flacons de 2 mL + 1 flacon "zéro" de 4 mL (prêts à l'emploi)

Sérum de contrôle : 2 flacons (lyophilisés)

Solution alcaline : 1 flacon de 15 mL (prêt à l'emploi)

Réactif de succinylation : un flacon (poudre)

DMSO (Diméthylsulfoxyde) : 1 flacon de 3 mL (prêt à l'emploi)

Solution de lavage (20x) : 1 flacon de 50 mL

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

En plus de l'équipement de laboratoire usuel, il est nécessaire d'utiliser le matériel suivant :

- tubes en polypropylène.
- micropipettes de précision (300 µL, 500 µL).
- pipette semi-automatique (50 µL, 100 µL, 250 µL, 2 mL).
- mélangeur de type vortex.
- agitateur à mouvement de va et vient horizontal ou à plateau oscillant.
- système d'aspiration.
- compteur gamma calibré pour l'iode 125.

PROCÉDURE

Préparation des réactifs

Équilibrer les réactifs à la température du laboratoire.

Reconstitution du sérum de contrôle

Prendre le contenu d'un des deux flacons avec le volume d'eau distillée indiqué sur l'étiquette. Attendre 10 - 20 min (max) après reconstitution et agiter doucement en évitant la formation de mousse avant de répartir dans les tubes. Une fois reconstitué, ne pas conserver le sérum de contrôle non traité par l'anhydride succinique, même congelé, pour une utilisation ultérieure. Utiliser le second flacon lors d'une seconde série.

Préparation du réactif d'succinylation

Le contenu du flacon est reconstitué à partir du volume de DMSO indiqué sur l'étiquette. Bien mélanger avant utilisation et vérifier visuellement la dissolution complète de l'anhydride succinique. Après reconstitution, le réactif est stable à 2-8 °C jusqu'à la date d'expiration du kit. Le léger tannage, parfois constaté lors du stockage, n'affecte en rien la performance du réactif de succinylation.

Préparation de la solution de lavage

Verser le contenu du flacon dans 950 mL d'eau distillée. Homogénéiser. La solution diluée peut être conservée à 2-8 °C jusqu'à la date de péremption de la trousse.

Protocole du dosage

Succinylation du sérum de contrôle et des échantillons

Attention : ne pas succinyler les calibrateurs Dans un tube en polypropylène déposer dans l'ordre : 500 µL d'échantillon ou de sérum de contrôle 250 µL de solution alcaline 50 µL de réactif d'succinylation Vortexer immédiatement Incuber 5 minutes à 18-25 °C
--

Remarque 1 : Les volumes indiqués ci-dessus permettent de faire les déterminations en double. Pour des dosages en simple, les volumes d'échantillon, de solution alcaline et de réactif d'succinylation peuvent être divisés par 2.

Remarque 2 : Après succinylation du sérum, l'indicateur coloré du réactif de modification doit alors présenter une couleur jaune qui témoigne de l'efficacité de la réaction. Une couleur violette persistante indique une réaction anormale.

Étape immunologique 1	Étape immunologique 2'	Comptage
Dans les tubes recouverts d'anticorps, déposer :	Dans chaque tube distribuer :	Laver 2 fois avec 2 mL de solution de lavage
300 µL de calibrateur, ou d'échantillon succinylé ou de sérum de contrôle succinylé	100 µL de traceur	Compter les cpm liés (B) et cpm totaux (T) pendant 1 min.
Incuber 1 heure à 18-25 °C avec agitation (>280 rpm).	Incuber 2 heures à 18-25 °C avec agitation à >280 rpm.	
Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube	Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube (sauf 2 tubes «cpm totaux»)	

*Ajouter 100 µL de traceur dans 2 tubes supplémentaires pour obtenir les cpm totaux.

RÉSULTATS

Les résultats sont déduits de la courbe standard par interpolation. La courbe sert à déterminer les taux d'ACTH de tous les échantillons mesurés en même temps que les calibrateurs.

Courbe standard

Les résultats obtenus par le service chargé du contrôle de qualité ont été calculés en utilisant un ajustement de courbe *spline* avec $(cpm_{cal} - cpm_{cal0})$ sur

l'axe log vertical et la concentration en analyte des calibrateurs sur l'axe log horizontal (pg/mL).

L'utilisation d'un autre mode de calcul peut conduire à des résultats légèrement différents.

Activité totale : 257 224 cpm				
Calibrateurs	ACTH (pg/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	cpm _{cal} - cpm _{cat0}
0	0	182	0,07	-
1	8,2	829	0,32	647
2	26,0	1 847	0,72	1 665
3	87,0	5 505	2,14	5 323
4	451	23 888	9,30	23 706
5	1 322	57 455	22,34	57 273

(Exemple de courbe standard, ne pas utiliser pour les calculs)

Echantillons

Pour chaque échantillon, repérer les valeur de cpm ou B/T sur l'axe vertical et lire la concentration de l'échantillon en ACTH correspondante sur l'axe horizontal.

Attention : La concentration étiquetée sur les flacons de calibrateur tient compte de la dilution occasionnée par l'étape d'succinylation. Il n'est donc pas nécessaire de tenir compte de cette dilution pour le calcul des concentrations des échantillons (lecture directe sur la gamme).

VALEURS ATTENDUES

Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs normales. Les valeurs suivantes déterminées chez des sujets sains sont données à titre indicatif.

Nombre	Moyen	Médiane	2,5ème percentile	97,5ème percentile
42	18,5 pg/mL	15 pg/mL	7 pg/mL	41 pg/mL

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les bonnes pratiques de laboratoire impliquent que des échantillons de contrôle soient utilisés dans chaque série de dosage pour s'assurer de la qualité des résultats obtenus. Ces échantillons devront être traités de la même façon que les prélèvements à doser et il est recommandé d'en analyser les résultats à l'aide de méthodes statistiques appropriées.

En cas de détérioration de l'emballage ou si les résultats obtenus montrent une perte de performance du produit, veuillez contacter notre service Support Technique. E-mail : imunochem@beckman.com

PERFORMANCES DU DOSAGE

(Voir la feuille "APPENDIX" pour plus de détails)

Sensibilité

Sensibilité analytique : 0,31 pg/mL

Sensibilité fonctionnelle : 4,82 pg/mL

Spécificité

Les anticorps utilisés dans ce dosage sont hautement spécifiques de l'ACTH. Des réactivités croisées extrêmement basses ont été obtenues en l'absence (réactivités croisées) ou en présence (interférences) d'ACTH vis à vis de molécules apparentées (ACTH 1-24; 1-10; 18-39; 11-24; α MSH et POMC).

Précision

Intra-essai

Des échantillons ont été dosés 25 fois dans une même série. Les coefficients de variation obtenus étaient inférieurs ou égales à 10,0 %.

Inter-essais

Des échantillons ont été dosés en doublet dans 10 séries différentes. Les coefficients de variation obtenus étaient inférieurs ou égales à 10,8 %.

Exactitude

Epreuve de dilutions

Des échantillons de concentration élevée ont été succinylés puis dilués dans le calibrateur zéro de la trousse. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 82,3 % et 119 %.

Epreuve de surcharge

Des quantités connues d'ACTH ont été ajoutées à des sérums humains. Les échantillons ont ensuite été succinylés puis dosés. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 97,2 % et 116 %.

Plage de mesure (de la sensibilité analytique au calibrateur le plus élevé) : 0,31 à environ 1 500 pg/mL.

LIMITES

Le non-respect des recommandations indiquées dans cette notice peut avoir un impact significatif sur les résultats.

Les résultats doivent être interprétés à la lumière du dossier clinique complet du patient, incluant l'historique clinique et les données de tests additionnels et toute autre information appropriée.

L'héparine a la propriété de se lier à l'ACTH et ne doit donc pas être utilisée. Tous les prélèvements doivent donc être effectués sur EDTA.

Pour les tests employant des anticorps, il existe la possibilité d'une interférence par des anticorps hétérophiles présents dans l'échantillon du patient. Les patients qui ont été régulièrement exposés à des animaux ou qui ont reçu une immunothérapie ou qui ont subi des procédures diagnostiques utilisant des immunoglobulines ou des fragments d'immunoglobulines peuvent produire des anticorps, par exemple des anticorps HAMA (anticorps humains anti-souris), qui interfèrent avec les tests immunologiques. Ces anticorps qui interfèrent peuvent être la cause de résultats erronés. Evaluer avec précaution les résultats de patients suspectés de posséder ces anticorps.

IRMA ACTH

REF IM2030, B89463

RADIOIMMUNOASSAY FÜR DIE IN-VITRO BESTIMMUNG VON ACTH IN HUMANEM PLASMA

In-vitro-Diagnostikum.

PRINZIP

Der Radioimmunoassay ACTH basiert auf dem typischen "Sandwichprinzip" und beinhaltet eine vorausgehende chemische Veränderung des ACTH durch Succinylierung (sACTH).

ACTH ist hochgradig konserviert in verschiedenen biologischen Spezies und ist instabil. Aus diesen beiden Gründen ist die Immunisierung von Tieren gegen das humane Hormon in Hinsicht auf die Produktion von Antikörpern mit ausreichend hoher Affinität für die Benutzung in Radioimmunoassays sehr schwierig. Die chemische Veränderung von humanem ACTH durch Succinylierung ermöglicht die Unterscheidung von dem endogenem ACTH immunisierter Tiere und erhöht die Stabilität. Monoklonale Antikörper mit hoher Affinität für succinyliertes humanes ACTH konnten in dieser Weise erhalten werden. Die Spezifität der in dem Versuch verwendeten Antikörper erfordert eine chemische Veränderung der Proben nach demselben Prinzip. Dies kann in einfacher Weise und mit hoher Reproduktionsrate mit der Succinylierungsreagenz des Kits durchgeführt werden. Zusätzlich erhöht die chemische Veränderung der Proben die Stabilität des ACTH und vereinfacht die Behandlung der Proben.

In dem Kit werden drei monoklonale Mausantikörper, mit drei verschiedenen nicht konkurrierenden Epitopen gegen sACTH, verwendet. Veränderte Proben und Kalibratoren werden zuerst in mit zwei monoklonalen Antikörpern beschichteten Röhrchen inkubiert. Nach dieser ersten Inkubation wird die Flüssigkeit vorsichtig abgesaugt. Eine Lösung mit einem dritten, ¹²⁵I-markiertem monoklonalen Antikörper wird dann hinzugefügt. Nach einer zweiten Inkubation wird der Inhalt der Röhrchen vorsichtig abgesaugt, und - nach zweimaligem Auswaschen der Röhrchen - die gebundene Radioaktivität bestimmt. Unbekannte Probenwerte werden mittels Interpolation aus der Standardkurve bestimmt. Die Konzentration des ACTH in den Proben ist direkt proportional zu der Radioaktivität

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Allgemeinhinweise:

- Die Kalibrator- und Kontrollfläschchen sollten so kurz wie möglich geöffnet werden, um eine übermäßige Verdunstung zu vermeiden.
- Die Reagenzien sollten Raumtemperatur haben vor dem Pipettieren.
- Reagenzien aus Kits von verschiedenen Produktionsserien sollten nicht miteinander vermischt werden.
- Eine Standardkurve ist für jeden Assay notwendig.
- Die korrekte Einstellung des Schüttlers ist sehr wichtig für die Reproduzierbarkeit des Assays.
- Der Assay sollte in Doppelbestimmung durchgeführt werden.
- Jedes Röhrchen darf nur einmal verwendet werden.

Schutz vor radioaktiver Strahlung

Annahme, Besitz und Verwendung, Lagerung, Transport und Beseitigung unterliegen den Vorschriften der Atomenergie- bzw. der jeweiligen staatlichen Behörde. Die Einhaltung der Grundregeln beim Umgang mit Radioaktivität sollte eine ausreichende Sicherheit gewährleisten.

- In Räumen, in denen mit radioaktiven Materialien gearbeitet wird, sollte Essen, Trinken, Rauchen und das Auftragen von Kosmetika vermieden werden.
- Keine Mundpipette verwenden.
- Direkter Kontakt mit radioaktiven Materialien sollte durch Tragen entsprechender Schutzkleidung (Laborkittel, Handschuhe) vermieden werden.
- Das Arbeiten mit radioaktiven Stoffen muß in dafür speziell gekennzeichneten Bereichen, die vom normalen Laborbetrieb abgetrennt sind, erfolgen.
- Radioaktive Materialien sollten in einem speziell gekennzeichneten Bereich gelagert werden.
- Ein Register der Eingänge und Lagerung aller radioaktiven Produkte sollte ständig aktualisiert werden.
- Kontaminierte Labor- und Glasgeräte sollten isoliert werden, um eine Kreuzkontamination von verschiedenen Radioisotopen zu verhindern.

- Kontaminationen des Arbeitsplatzes müssen unverzüglich sorgfältig nach den üblichen Verfahren entfernt werden.
- Radioaktiver Abfall muss entsprechend den Richtlinien jedes Einsatzortes entsorgt werden.

Natriumazid



Zur Vermeidung mikrobieller Kontamination enthalten einige Reagenzien Natriumazid. Natriumazid kann mit Blei, Kupfer oder Messing zu explosiven Metallaziden reagieren. Um dies zu vermeiden, sollte bei einer Entsorgung über Rohrleitungen mit viel Wasser nachgespült werden.

Bestandteile menschlichen Ursprungs

Bestandteile menschlichen Ursprungs, die für diesen Kit verwendet wurden, sind auf HIV-1 und HIV-2 Antikörper, HCV Antikörper und Hepatitis B surface Antigen (HbsAg) getestet und als nicht reaktiv befunden wurden. Es ist so vorzugehen, als ob eine tatsächliche Ansteckungsgefahr bestünde. Keine Testmethode kann völlige Sicherheit bieten. Der Kit sollte mit allen notwendigen Sicherheitsvorkehrungen behandelt werden.

Alle Plasmaproben sollten als potentielle Überträger von Hepatitis und AIDS behandelt und Abfälle entsprechend den jeweiligen Länderbestimmungen entsorgt werden.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Wash Solution (20X)	GEFAHR	
		
	H360	Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen.
	P201	Vor dem Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
	P280	Schutzhandschuhe, Schutzkleidung und Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
	P308+P313	BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Borsäure 0,1 - 0,3% di-Natriumtetraborat-Decahydrat 0,1 - 0,3%
Succinylation Reagent	ACHTUNG	
		
	H302	Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.
	H319	Verursacht schwere Augenreizung.
	H335	Kann die Atemwege reizen.
	P261	Einatmen von Dampf vermeiden.
	P280	Schutzhandschuhe, Schutzkleidung und Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
	P304+P340	BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen.
	P312	Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
	P337+P313	Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
	P403+P233	Behälter dicht verschlossen an einem gut belüfteten Ort aufbewahren.

Calibrators

ACHTUNG



H315 Verursacht Hautreizungen.
H319 Verursacht schwere Augenreizung.
H335 Kann die Atemwege reizen.
P261 Einatmen von Dampf vermeiden.
P271 Nur im Freien oder in gut belüfteten Räumen verwenden.
P280 Schutzhandschuhe, Schutzkleidung und Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
P302+P352 BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen.
P304+P340 BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen.
P305+P351+P338 BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.
P312 Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
P332+P313 Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P337+P313 Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P362+P364 Kontaminierten Kleidungsstücke ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.
P403+P233 Behälter dicht verschlossen an einem gut belüfteten Ort aufbewahren.
P405 Unter Verschluss aufbewahren.
P501 Inhalt/Behälter in Übereinstimmung mit lokalen/nationalen Vorschriften entsorgen.
Dimethylsulfoxid
Bernsteinsäureanhydrid
Kaliumhydroxid

Bernsteinsäureanhydrid > 95%

P304+P340

BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen.
Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
Behälter dicht verschlossen an einem gut belüfteten Ort aufbewahren.
Dimethylsulfoxid > 95%

P312

P337+P313

P403+P233



Das Sicherheitsdatenblatt ist auf techdocs.beckmancoulter.com verfügbar.

PROBENENTNAHME, -BEHANDLUNG, -LAGERUNG UND VERDÜNNUNG

- Das Blut sollte in mit Silikon beschichteten Glasröhrchen, oder in Plastikröhrchen mit EDTA gesammelt werden. Heparin sollte nicht als Antikoagulanzen verwendet werden. Nicht silikonisierte Glasröhrchen führen zur Adsorption des ACTH und sollten nicht verwendet werden.
- Trennen Sie das Plasma durch Zentrifugation so schnell wie möglich bei 2-8 °C.
- Infolge der Instabilität des ACTH-Moleküls müssen die Plasmaproben unter -18 °C gelagert werden, wenn der Versuch nicht sofort durchgeführt wird. Die Proben sollten aliquotiert werden, um wiederholtes Auftauen und Einfrieren zu vermeiden.

In Hinblick auf die Stabilisierung des ACTH durch Succinylierung können die Plasmaproben direkt nach der Zentrifugation nach den Anweisungen von Paragraph Testdurchführung succinyliert werden. Die succinylierten Proben können für 7 Tage bei 2-8 °C gelagert werden. Für eine längere Lagerung sollten die Proben unter -18 °C gelagert werden. Chemisch veränderte Proben müssen nicht aliquotiert werden, da succinyliertes ACTH relativ unempfindlich gegenüber wiederholtem Einfrieren und Auftauen ist.

- Wenn die Probenkonzentration über dem höchsten Kalibratorwert haben, müssen sie succinyliert und in Nullkalibrator verdünnt werden.

MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Die Reagenzien sind verwendbar bis zum Verfallsdatum, wenn sie bei 2-8 °C gelagert werden. Auf die Fläschchen gedruckte Verfallsdaten betreffen nur die Langzeitlagerung beim Hersteller, vor der Zusammensetzung des Kits. Bitte nicht beachten.

Lagerungsbedingungen für Reagenzien nach der Rekonstitution oder Verdünnung werden im Abschnitt „Verfahren“ angegeben.

Kit für die Bestimmung von ACTH, 100 Röhrchen (Kat. #IM2030)

Röhrchen mit monoklonalen Anti-sACTH Antikörpern beschichtet: 2 x 50 Röhrchen (gebrauchsfertig)

¹²⁵I-markierte monoklonale Antikörper: eine 11 mL Flasche (gebrauchsfertig)

Die Flasche enthält 814 kBq (am Tag der Herstellung) des ¹²⁵I-markierten Immunglobulins in flüssiger Form mit Proteinen, Natriumazid (<0,1 %), und einem Farbstoff.

Kalibrators: fünf 2 mL Fläschchen + ein 4 mL Fläschchen „Nullkalibrator“ (gebrauchsfertig)

Die Kalibratorflaschen enthalten mit Succinyl-Anhydrid behandeltes humanes Serum. Sie sind gebrauchsfertig und müssen nicht erneut chemisch verändert werden.

Die Kalibratorflaschen enthalten zwischen 0 bis ungefähr 1 500 pg/mL synthetisches sACTH in humanem Serum und Natriumazid (<0,1 %). Die genauen Konzentrationen sind auf jedem Fläschchen angegeben. Die Kalibrators wurden gegen den internationalen Standard NIBSC 74/555 kalibriert.

DMSO

ACHTUNG



H227 Brennbare Flüssigkeit.
H315 Verursacht Hautreizungen.
H319 Verursacht schwere Augenreizung.
H335 Kann die Atemwege reizen.
P261 Einatmen von Dampf vermeiden.
P280 Schutzhandschuhe, Schutzkleidung und Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

Serumkontrolle: zwei Fläschchen (lyophilisiert)

Achtung: Wegen der Instabilität des ACTH Moleküls werden in jedem Kit zwei Fläschchen derselben Serumkontrolle mitgeführt. Nach der Wiederherstellung sollten mit Succinyl-Anhydrid unbehandelte Serumkontrollen nicht (selbst eingefroren) konserviert werden. Für eine zweite Serie sollte das zweite Fläschchen benutzt werden.

Die Fläschchen enthalten synthetisches ACTH lyophilisiert in humanem Serum. Der Konzentrationsbereich wird auf der Packungsbeilage angegeben.

Alkalische Lösung: eine 15 mL Flasche (gebrauchsfertig)

Der Puffer enthält Natriumazid (<0,1 %).

Succinylierungsreagenz: ein Fläschchen (Pulver)

Das Fläschchen enthält 600 mg Bernsteinsäureanhydrid.

DMSO (Dimethylsulfoxid): eine 3 mL Flasche (gebrauchsfertig)

DMSO-Lösung mit Phenolrot. DMSO Raumtemperatur annehmen lassen, bis es vollständig geschmolzen ist. Vor Verwendung vorsichtig mischen.

Waschlösung (20x): eine 50 mL Flasche

Die konzentrierte Lösung muss vor Gebrauch verdünnt werden.

Kit für die Bestimmung von ACTH, 50 Röhrchen (Kat. #B89463)

Röhrchen mit monoklonalen Anti-sACTH Antikörpern beschichtet: 1 x 50 Röhrchen (gebrauchsfertig)

¹²⁵I-markierte monoklonale Antikörper: eine 11 mL Flasche (gebrauchsfertig)

Kalibratoren: fünf 2 mL Fläschchen + ein 4 mL Fläschchen "Nullkalibrator" (gebrauchsfertig)

Serumkontrolle: zwei Fläschchen (lyophilisiert)

Alkalische Lösung: eine 15 mL Flasche (gebrauchsfertig)

Succinylierungsreagenz: ein Fläschchen (Pulver)

DMSO (Dimethylsulfoxid): eine 3 mL Flasche (gebrauchsfertig)

Waschlösung (20x): eine 50 mL Flasche

ERFORDERLICHE, JEDOCH NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Zusätzlich zu der Standardlaborausstattung, werden die folgenden Materialien benötigt:

- Polypropylen-Röhrchen.
- Präzisionspipetten (300 µL; 500 µL).
- Halbautomatische Pipetten (50 µL; 100 µL; 250 µL, 2 mL).
- Vortexmischer.
- Horizontal, oder Orbitalschüttler.
- Absaugsystem.
- Gamma-Counter für 125I.

DURCHFÜHRUNG

Präparation der Reagenzien

Die Reagenzien sollten Raumtemperatur haben.

Auflösen des Kontrollserums

Der Inhalt der Fläschchen wird mit einem auf dem Etikett angegebenen Volumen destilliertem Wassers wiederaufgenommen. Eine Wartezeit von 10 - 20 Minuten (max) und leichtes Mischen sollten jegliches Schäumen vor dem Verteilen vermeiden. Nach der Wiederherstellung sollten mit Succinyl-Anhydrid unbehandelte Serumkontrollen nicht (selbst eingefroren) konserviert werden. Für eine zweite Serie sollte das zweite Fläschchen benutzt werden.

Wiederaufnahme des Succinylierungsreagenz

Der Inhalt des Fläschchens wird mit dem auf dem Etikett angegebenen DMSO-Volumen rekonstituiert. Vor der Verwendung gründlich mischen und die vollständige Auflösung des Bernsteinsäureanhydrids durch Sichtkontrolle überprüfen. Nach der Rekonstitution ist das Reagenz bei 2-8 °C bis zum Verfallsdatum des Kits stabil. Die leichte Dunkelfärbung, die manchmal im Rahmen der Lagerung beobachtet werden kann, hat keinerlei Einfluss auf die Leistungsfähigkeit des Succinylierungsreagenzes.

Präparation der Waschlösung

Den Inhalt der Flasche in 950 mL destilliertes Wasser schütten und homogenisieren. Die verdünnte Lösung ist bei 2-8 °C bis zum Verfallsdatum haltbar.

Testdurchführung

Succinylierung von Serumkontrollen und Proben

Achtung: keine Kalibrators Succinylieren	
Zugabe zu Polypropylen-beschichteten Röhrchen (in dieser Reihenfolge)	
500 µL Probe oder Serumkontrolle	
250 µL Alkalische Lösung	
50 µL Succinylierungsreagenz	
Sofort vortexen	
5 Minuten bei 18-25 °C inkubieren	

Anmerkung 1: Die angegebenen Volumen sind ausreichend für eine Durchführung des Versuchs als Doppelbestimmung. Für einfache Bestimmungen können die Volumen von Probe, alkalischer Lösung und Succinylierungsreagenz halbiert werden.

Anmerkung 2: Der Farbindikator des Succinylierungsreagenz nimmt eine gelbe Färbung an wenn die Reaktion normal stattgefunden hat. Eine unveränderte violette Färbung zeugt von einer anormalen Reaktion.

Schritt 1	Schritt 2	Messung
Zugabe zu den beschichteten Röhrchen:	Zugabe zu den Röhrchen:	Zweimal mit 2 mL Waschlösung waschen
300 µL Kalibrator, succinylierte Probe oder succinylierte Serumkontrolle	100 µL Tracer	Gebundene cpm (B) und Totalaktivität (T) bestimmen (1 min)
1 Stunde bei 18-25 °C mit Schütteln (>280 rpm).	Vorsichtig vortexen. Für 2 Stunden bei 18-25 °C schütteln (>280 rpm).	
Vorsichtig den Inhalt der Röhrchen absaugen	Vorsichtig den Inhalt der Röhrchen absaugen (außer den zwei Röhrchen für Totalaktivität)	

*Fügen Sie 100 µL Tracer in 2 zusätzliche Röhrchen hinzu, um die Totalaktivität zu erhalten.

ERGEBNISSE

Die Ergebnisse werden aus der Standardkurve mittels Interpolation ermittelt. Die Kurve kann für die Bestimmung der ACTH-Konzentration in den Proben dienen, die zur gleichen Zeit wie die Standardkurve gemessen wurden.

Standardkurve

Die Ergebnisse wurden in der Abteilung für Qualitätskontrolle anhand einer *Spline*-Kurvenanpassung mit Radioaktivitätsbestimmung ($cpm_{Kal} - cpm_{Kal0}$) auf der logarithmischen vertikalen Achse und der Analytkonzentration der Kalibratoren auf der logarithmischen horizontalen Achse berechnet (pg/mL).

Andere Datenreduktions-Methoden können zu leicht abweichenden Ergebnissen führen.

Totalaktivität: 257 224 cpm				
Kalibratoren	ACTH (pg/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{Kal} - cpm_{Kal0}$
0	0	182	0,07	-
1	8,2	829	0,32	647
2	26,0	1 847	0,72	1 665
3	87,0	5 505	2,14	5 323
4	451	23 888	9,30	23 706
5	1 322	57 455	22,34	57 273

(Beispiel einer Standardkurve, nicht zur Berechnung verwenden)

Proben

Für jede Probe den cpm- oder B/T-Wert auf der vertikalen Achse ausfindig machen und die zugehörige ACTH-Konzentration auf der horizontalen Achse ablesen.

Anmerkung: Die auf den Kalibratorfläschchen angegebene Konzentration berücksichtigt den Verdünnungsfaktor der Succinylierungsstufe. Diese Verdünnung muss nicht für die Errechnung der Konzentration in den Proben in Betracht gezogen werden (direkte Bestimmung der Konzentration von der Standardkurve).

ERWARTETE WERTE

Jedes Labor sollte seinen eigenen Normalbereich in Gruppen von gesunden Testpersonen festlegen. Die hier angegebenen Werte dienen nur als Richtlinie.

Nummer	Durchschnitt	Median	2,5. Perzentil	97,5. Perzentil
42	18,5 pg/mL	15 pg/mL	7 pg/mL	41 pg/mL

QUALITÄTSKONTROLLE

Zur Einhaltung der Laborgrundregeln sollten regelmäßig Kontrollproben benutzt werden, um die Qualität der Ergebnisse zu sichern. Diese Proben müssen in genau derselben Weise wie die Assayproben getestet werden, und die Analyse der Ergebnisse sollte mit angebrachten statistischen Methoden stattfinden.

Im Falle von Verpackungsschäden oder einer Leistungseinträchtigung des Produkts, kontaktieren Sie bitte Ihren lokalen Vertreiber oder benutzen Sie die folgende e-mail: imunochem@beckman.com

SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

(Für mehr Details, siehe die Beilage "APPENDIX").

Empfindlichkeit

Analytische Sensitivität: 0,31 pg/mL

Funktionale Sensitivität: 4,82 pg/mL

Spezifität

Der in diesem Immunoassay verwendete Antikörper ist höchst spezifisch für ACTH. Extrem niedrige Kreuzreaktionen wurden mit einigen verwandten Molekülen (ACTH 1-24; 1-10; 18-39; 11-24; αMSH und POMC), entweder in Abwesenheit (Kreuzreaktion) oder in Anwesenheit (Interferenz) von ACTH, ermessens.

Präzision

Intra-Assay

Proben aus derselben Serie wurden 25 mal getestet. Der Variationskoeffizient war jeweils weniger oder gleich 10,0 %.

Inter-assay

Proben aus 10 verschiedenen Serien wurden als Doppelbestimmungen getestet. Der Variationskoeffizient war jeweils weniger oder gleich 10,8 %.

Genauigkeit

Verdünnungstest

Hoch konzentrierte Proben wurden succinyliert und in Nullkalibrator verdünnt. Die erhaltene Wiederfindung befindet sich zwischen 82,3 % und 119 %.

Wiederfindungstest

Schwach konzentrierte Proben wurden mit definierten ACTH-Mengen vermischt. Die Proben wurden succinyliert und getestet. Die erhaltene Wiederfindung befindet sich zwischen 97,2 % und 116 %.

Meßbereich (von der analytischen Sensitivität bis zum höchsten Kalibrator): 0,31 bis ungefähr 1 500 pg/mL.

EINSCHRÄNKUNGEN

Die Nichtbeachtung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage kann die Ergebnisse signifikant beeinflussen.

Die erhaltenen Ergebnisse sind vor dem Hintergrund der gesamten klinischen Situation des Patienten unter Berücksichtigung seiner klinischen Vorgeschichte, den Ergebnissen anderer Testergebnisse sowie weiteren vorliegenden Informationen zu interpretieren.

Heparin bindet ACTH und sollte nicht verwendet werden. Die Proben sollten in EDTA gesammelt werden.

Bei Assays, die Antikörper nutzen, besteht die Möglichkeit einer Störung durch in der Patientenprobe enthaltene heterophile Antikörper. Patienten, die regelmäßig mit Tieren in Kontakt kommen oder sich immuntherapeutischen oder -diagnostischen Verfahren unter Einsatz von Immunglobulinen oder Immunglobulin-Fragmenten unterzogen haben, können Antikörper bilden (wie bspw. HAMA), welche die Immunoassays stören. Derartige störende Antikörper können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Die Ergebnisse von Patienten, bei denen das Vorliegen derartiger Antikörper zu vermuten ist, sind sorgfältig zu untersuchen.

IRMA ACTH

REF IM2030, B89463

KIT IMMUNORADIOMETRICO PER LA DETERMINAZIONE IN VITRO DELL'ACTH NEL PLASMA UMANO Per uso diagnostico *in vitro*.

PRINCIPIO

Il dosaggio dell'ACTH è un metodo immunoradiometrico tipo "sandwich" in cui l'ACTH contenuta nei campioni viene modificata chimicamente prima del dosaggio per dare succinil ACTH (sACTH).

L'ACTH è una molecola altamente conservata nelle specie animali ed molto instabile. Per questi motivi è particolarmente difficile immunizzare gli animali contro l'ormone umano e produrre anticorpi con affinità sufficiente per poter essere utilizzati in un dosaggio immunoradiometrico. L'acilazione dell'ACTH umano permette di renderlo differente da quello endogeno e di aumentarne la stabilità. Si sono potuti così ottenere anticorpi monoclonali ad alta affinità per l'ACTH umano acilato. L'elevata specificità degli anticorpi utilizzati nel dosaggio richiede che i calibratori e campioni contengano ACTH acilato. Il kit contiene un reattivo che permette l'acilazione dell'ACTH presente nei campioni in modo semplice e riproducibile aumentandone anche la stabilità e così semplificando la manipolazione dei campioni.

Nel kit sono utilizzati tre anticorpi monoclonali da topo, diretti contro tre differenti epitopi dell' sACTH e, quindi, non in competizione fra loro. Campioni acilati o calibratori vengono incubati in provette sensibilizzate con due anticorpi monoclonali anti sACTH. Al termine dell'incubazione le provette vengono aspirate e lavate; la presenza di sACTH viene rivelata con l'aggiunta di un terzo anticorpo monoclonale anti sACTH, marcato con ¹²⁵I. Al termine della seconda incubazione le provette vengono aspirate e lavate per allontanare l'anticorpo marcato non legato. La radioattività legata alle provette, misurata con un contatore gamma, è direttamente proporzionale alla concentrazione di ACTH in campioni e calibratori. La concentrazione di ACTH nei campioni viene ricavata per interpolazione dalla curva standard.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Considerazioni generali:

- Aprire i flaconi dei calibratori e controlli nel più breve tempo possibile per evitarne l'eccessiva evaporazione.
- Prima dell'uso lasciare equilibrare i reattivi a temperatura ambiente.
- Non utilizzare reattivi di lotti diversi.
- Inserire la curva standard in ogni esperimento.
- per ottenere una migliore riproducibilità, è necessario programmare l'agitatore oscillante ogni volta alla stessa velocità.
- Eseguire il dosaggio in duplicato.
- Le provette sono monouso.

Norme di radioprotezione

L'acquisto, la detenzione, l'utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale. Lo scrupoloso rispetto delle norme per l'uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori. Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici.

- Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici.
- Non pipettare materiale radioattivo con pipette a bocca.
- Usare sempre guanti e camici da laboratorio quando si manipola materiale radioattivo.
- Tutte le manipolazioni di sostanze radioattive devono essere fatte in posti appropriati, lontano da corridoi ed altri posti affollati.
- 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.

Sodio azide




Alcuni reattivi contengono sodio azide come conservante, che può reagire con piombo, rame o ottone presenti nelle tubature di scarico per formare metallo-azidi esplosivi. Smaltire questi reattivi facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi.

Materiale di origine umana

Alcuni reattivi presenti nel kit sono di origine umana e si sono rivelati negativi per anticorpi anti HIV1 e HIV2, anticorpi anti HCV e antigene di superficie dell'epatite B (HbsAg). Questi reattivi devono essere manipolati come in grado di trasmettere malattie infettive. Non sono disponibili metodi in grado di offrire la certezza assoluta che questi o altri agenti infettivi siano assenti. Manipolare questi reattivi come potenziali fonti di infezioni.

Manipolare tutti i campioni di sangue come potenziali fonti di infezioni. (Ad es. epatite o AIDS). I rifiuti devono essere smaltiti secondo le disposizioni legislative e la regolamentazione vigente in ciascun Paese.

CLASSIFICAZIONE PERICOLI GHS

Wash Solution (20X)	PERICOLO	
		
H360		Può nuocere alla fertilità o al feto.
P201		Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.
P280		Indossare guanti/indumenti protettivi e proteggere gli occhi/il viso.
P308+P313		IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico. Acido bórico 0,1 - 0,3% Decaidrato borato di sodio 0,1 - 0,3%
Succinylation Reagent	ATTENZIONE	
		
H302		Nocivo se ingerito.
H319		Provoca grave irritazione oculare.
H335		Può irritare le vie respiratorie.
P261		Evitare di respirare i vapori.
P280		Indossare guanti/indumenti protettivi e proteggere gli occhi/il viso.
P304+P340		IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione.
P312		Contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico in caso di malessere.
P337+P313		Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico.
P403+P233		Tenere il recipiente ben chiuso e in luogo ben ventilato. Anidride succinica > 95%
Calibrators	ATTENZIONE	
		
H315		Provoca irritazione cutanea.
H319		Provoca grave irritazione oculare.
H335		Può irritare le vie respiratorie.
P261		Evitare di respirare i vapori.
P271		Utilizzare soltanto all'aperto o in luogo ben ventilato.

P280	Indossare guanti/indumenti protettivi e proteggere gli occhi/il viso.
P302+P352	IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone.
P304+P340	IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione.
P305+P351+P338	IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
P312	Contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico in caso di malessere.
P332+P313	In caso di irritazione della pelle: consultare un medico.
P337+P313	Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico.
P362+P364	Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.
P403+P233	Tenere il recipiente ben chiuso e in luogo ben ventilato.
P405	Conservare sotto chiave.
P501	Smaltire il prodotto/recipiente in conformità con le norme locali e nazionali. Dimetilsolfossido Anidride succinica Idrossido di potassio

DMSO

ATTENZIONE



H227	Liquido combustibile.
H315	Provoca irritazione cutanea.
H319	Provoca grave irritazione oculare.
H335	Può irritare le vie respiratorie.
P261	Evitare di respirare i vapori.
P280	Indossare guanti/indumenti protettivi e proteggere gli occhi/il viso.
P304+P340	IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione.
P312	Contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico in caso di malessere.
P337+P313	Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico.
P403+P233	Tenere il recipiente ben chiuso e in luogo ben ventilato. Dimetilsolfossido > 95%

RACCOLTA, MANIPOLAZIONE, DILUIZIONE E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

- Raccogliere il sangue in provette di vetro silconato o il polipropilene con EDTA come anticoagulante. Non usare provette contenenti eparina come anticoagulante. Non usare provette in vetro non silconato perché l'ACTH tende ad adsorbirsi su questa superficie.
- Separare prima possibile per centrifugazione a 2-8 °C il plasma dalla parte corpuscolata.
- Se non si intende eseguire il dosaggio immediatamente, conservare i campioni suddivisi in aliquote a -18 °C o a temperature inferiori. Evitare ripetuti cicli di congelamento - scongelamento dei campioni.
In alternativa, è possibile acilare i campioni subito dopo la centrifugazione, seguendo il protocollo riportato al paragrafo Metodo del dosaggio. I campioni acilati possono essere conservati fino a 7 giorni a 2-8 °C o a -20 °C o a temperature inferiori per periodi più lunghi. Non è necessario suddividere i campioni in aliquote poiché l'ACTH succinilata non è sensibile a ripetuti cicli di congelamento e scongelamento.
- Acilare e poi diluire con calibratore zero i campioni con concentrazioni di ACTH superiori a quelle dell'ultimo calibratore.

MATERIALI FORNITI

I reattivi, conservati a 2-8 °C, sono stabili fino alla data di scadenza riportata sul kit. Le date di scadenza riportate sulle etichette di ciascun flacone si riferiscono alla conservazione dei reattivi stabilita in produzione, prima del loro inserimento nel kit.

Le modalità di conservazione dei reagenti dopo la ricostituzione o la diluizione sono riportate nel paragrafo Procedura.

Kit per il dosaggio del ACTH, 100 determinazioni (Cat. #IM2030)

Provette sensibilizzate con anticorpi anti-sACTH: 2 x 50 provette (pronte per l'uso).

Anticorpo monoclonale anti-sACTH-¹²⁵I: Un flacone 11 mL (pronto per l'uso).

Il flacone contiene 814 kBq, alla data di marcatura, di anticorpo monoclonale anti sACTH marcato con ¹²⁵I in forma liquida con proteine, sodio azide (<0,1%) e un colorante inerte.

Calibratori: Cinque flaconi 2 mL + un flacone di calibratore zero 4 mL (pronti per l'uso).

I flaconi contengono siero umano trattato con anidride succinica. Gli sono pronti per l'uso e non devono essere trattati prima del dosaggio.

I flaconi contengono sACTH sintetico a concentrazioni comprese tra 0 e circa 1.500 pg/mL, in siero umano e sodio azide (<0,1%). L'esatta concentrazione degli calibratori è riportata sulle etichette dei flaconi. Gli calibratori sono calibrati contro lo standard internazionale NIBSC 74/555.

Siero di controllo: Due flaconi (liofilizzati)

Attenzione: A causa dell'instabilità della molecola di ACTH, il kit contiene due flaconi dello stesso siero di controllo. Dopo la ricostituzione non è possibile conservare, neppure a -20 °C, il controllo non trattato con anidride succinica. Per un dosaggio successivo usare il secondo flacone.

Ogni flacone contiene ACTH sintetico liofilizzato in siero umano. I valori attesi sono riportati sul foglio del controllo di qualità.

Soluzione alcalina: Un flacone 15 mL (pronto per l'uso)

Il tampone contiene sodio azide (<0,1%).

Reagente di succinilazione: una fiala (polvere)

La fiala contiene 600 mg di anidride succinica.

DMSO (Dimetilsolfossido): Un flacone 3 mL (pronto per l'uso)

Soluzione DMSO con fenolo rosso. Attendere che DMSO raggiunga l'equilibrio a temperatura ambiente fino al completo scioglimento. Miscelare con delicatezza prima dell'uso.

Soluzione di lavaggio (20x): Un flacone 50 mL

Soluzione concentrata da diluire prima dell'uso.



La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile su techdocs.beckmancoulter.com

Kit per il dosaggio del ACTH, 50 determinazioni (Cat. #B894630)

Provette sensibilizzate con anticorpi anti-sACTH: 1 x 50 provette (pronte per l'uso).

Anticorpo monoclonale anti-sACTH-125I: Un flacone 11 mL (pronto per l'uso).

Calibratori: Cinque flaconi 2 mL + un flacone di calibratore zero 4 mL (pronti per l'uso).

Siero di controllo: Due flaconi (liofilizzati)

Soluzione alcalina: Un flacone 15 mL (pronto per l'uso)

Reagente di succinilazione: una fiala (polvere)

DMSO (Dimetilsolfossido): Un flacone 3 mL (pronto per l'uso)

Soluzione di lavaggio (20x): Un flacone 50 mL

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Oltre alla normale attrezzatura da laboratorio, è richiesto il materiale seguente:

- provette in polipropilene.
- micropipette di precisione (300 µL; 500 µL).
- pipette semi-automatiche (50 µL; 100 µL; 250 µL, 2 mL).
- agitatore tipo vortex.
- agitatore oscillante per provette.
- sistema di aspirazione.
- contatore gamma programmato per leggere 125I.

PROCEDURA

Preparazione dei reattivi

Portare i reattivi a temperatura ambiente.

Ricostituzione del siero di controllo

Ricostituire il contenuto di uno dei due flaconi con il volume di acqua distillata riportato sull'etichetta di ciascun flacone. Lasciar riposare per almeno 10 - 20 minuti (max) e controllare la completa dissoluzione del liofilizzato invertendo più volte i flaconi. Dopo la ricostituzione non è possibile conservare, neppure a -20 °C, il controllo non trattato con anidride succinica. Per un dosaggio successivo usare il secondo flacone.

Ricostituzione del reattivo per l'succinylation

Il contenuto della fiala viene ricostituito con il volume di DMSO indicato sull'etichetta. Mescolare accuratamente prima dell'uso e controllare visivamente la dissoluzione completa dell'anidride succinica. Dopo la ricostituzione, il reagente è stabile a 2-8 °C fino alla data di scadenza del kit. Il leggero inscurimento, talvolta osservato durante la conservazione, non influisce in alcun modo sulle prestazioni del reagente di succinilazione.

Preparazione della soluzione di lavaggio

Diluire il contenuto del flacone con 950 mL e agitare con cura. La soluzione diluita è stabile a 2-8 °C fino alla scadenza del kit.

Metodo del dosaggio

Succinilazione di controllo e campioni

Attenzione: non succinylate gli calibratori	
In provette in polipropilene, pipettare in sequenza rispettando l'ordine indicato:	
500 µL di campione o siero di controllo	
250 µL di soluzione alcalina	
50 µL di reattivo per l'succinylation	
Agitare immediatamente su vortex	
Incubare 5 minuti a 18-25 °C	

Nota 1: I volumi indicati sono sufficienti per eseguire il dosaggio in duplicato. In caso di dosaggio in singolo è possibile dimezzare il volume di campioni, soluzione alcalina e reattivo per l'acilazione.

Nota 2: Il colore dell'indicatore di pH contenuto nel reattivo di acilazione deve virare in giallo a segnalare che la reazione è avvenuta regolarmente. Una reazione anomala è segnalata dalla persistenza di un colore violetto.

Fase immunologica 1	Fase immunologica 2	Conteggio
Aggiungere in successione alle provette sensibilizzate:	Aggiungere in tutte le provette	Lavare 2 volte con 2 mL di soluzione di lavaggio
300 µL di calibratori, campioni e controllo acilati	100 µL di marcato	Contare la radioattività legata (B) e l'attività totale (T) per 1 min.
Incubare 1 ora a 18-25 °C in agitazione (>280 rpm).	Agitare. Incubare 2 ore a 18-25 °C in agitazione (>280 rpm).	
Aspirare con cura il contenuto di ogni provetta	Aspirare il contenuto di ogni provetta (tranne in quelle per il controllo dell'attività totale)	

*Aggiungere 100 µL di marcato a 2 provette non sensibilizzate per la determinazione dell'attività totale.

RISULTATI

Le concentrazioni di ACTH in campioni e controllo vengono calcolate per interpolazione sulla curva standard. Campioni e controllo devono essere dosati insieme agli calibratori.

Curva standard

I risultati registrati dal reparto responsabile del controllo di qualità sono stati calcolati utilizzando l'adattamento della curva con metodo *spline* con radioattività determinata ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) sull'asse verticale logaritmico e la concentrazione di analiti dei calibratori sull'asse orizzontale logaritmico (pg/mL).

Altri metodi di interpolazione dati possono dare risultati leggermente differenti.

Attività totale: 257.224 cpm				
Calibratori	ACTH (pg/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{cal} - cpm_{cal0}$
0	0	182	0,07	-
1	8,2	829	0,32	647
2	26,0	1.847	0,72	1.665
3	87,0	5.505	2,14	5.323
4	451	23.888	9,30	23.706
5	1.322	57.455	22,34	57.273

(Esempio di curva standard. Non usare per calcolare il valore dei propri campioni)

Campioni

Per ogni campione, individuare il cpm o il valore B/T sull'asse verticale e leggere la concentrazione ACTH corrispondente sull'asse orizzontale.

Nota: Le concentrazioni indicate sulle etichette di ciascuno calibratori sono già comprensive del fattore di diluizione dovuto alla fase di succinilazione. Il valore di ACTH in campioni e controllo si ricava direttamente dalla curva standard senza dover applicare nessun fattore di diluizione.

VALORI ATTESI

Ogni laboratorio deve stabilire i propri limiti di riferimento in campioni provenienti da soggetti caratterizzati clinicamente. Si prega di considerare solo come guida i valori sotto riportati.

Numero	Media	Media	2.5° percentile	97.5° percentile
42	18,5 pg/mL	15 pg/mL	7 pg/mL	41 pg/mL

CONTROLLO DI QUALITÀ

Si consiglia ad ogni laboratorio di dosare regolarmente sieri di controllo per verificare la qualità dei risultati ottenuti. Questi campioni devono essere

manipolati esattamente come i campioni in esame; i risultati devono essere analizzati con metodi statistici appropriati.

In caso il kit fosse danneggiato o i dati ottenuti mostrino un'alterazione della performance, si prega di contattare il distributore locale o di scrivere all'indirizzo e-mail seguente: imunochem@beckman.com

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

(Ulteriori dati sono riportati in "APPENDIX")

Sensibilità

Sensibilità analitica: 0,31 pg/mL

Sensibilità funzionale: 4,82 pg/mL

Specificità

Gli anticorpi utilizzati nel kit sono altamente specifici per l'ACTH. Le cross-reazioni con molecole correlate (ACTH 1-24; 1-10; 18-39; 11-24; αMSH e POMC), sia in assenza, che in presenza (interferenze) di ACTH, sono molto basse.

Precisione

Intra-saggio

Alcuni campioni sono stati analizzati 25 volte in uno stesso esperimento; è stato trovato un coefficiente di variazione del 10,0% o inferiore.

Inter-saggio

Alcuni campioni sono stati analizzati in duplicato in 10 esperimenti differenti. Per i campioni di siero è stato trovato un coefficiente di variazione del 10,8% o inferiore.

Accuratezza

Test di diluizione

Alcuni campioni ad alta concentrazione di ACTH sono stati acilati e quindi diluiti con diluizioni seriali con lo calibratore zero. Il recupero è risultato essere compreso tra 82,3% e 119%.

Test di recupero

Ad alcuni campioni a bassa concentrazione di ACTH sono state aggiunte quantità note di ACTH; i campioni sono stati acilati e dosati. Il recupero è risultato essere compreso tra 97,2% e 116%.

Campo di misura (**è compreso tra la concentrazione della sensibilità analitica alla concentrazione del calibratore più elevato**): 0,31 e circa 1.500 pg/mL.

LIMITAZIONI

Rispettare accuratamente le istruzioni d'uso per evitare risultati aberranti.

I risultati devono essere interpretati in base alla valutazione clinica complessiva della paziente, che comprende la storia clinica, i dati ottenuti con altri test diagnostici o strumentali ed altre informazioni appropriate.

L'eparina lega l'ACTH e quindi non può essere utilizzata come anticoagulante. Raccogliere i campioni con EDTA come anticoagulante.

Nei test anticorpali, esiste la possibilità di interferenza degli anticorpi eterofili presenti nei campioni dei pazienti. I pazienti regolarmente a contatto con animali o sottoposti a immunoterapia o a procedure diagnostiche a base di immunoglobuline o frammenti di immunoglobuline possono produrre anticorpi, p.e. HAMA, che interferiscono con gli immunodosaggi. Tali anticorpi interferenti possono portare a risultati errati. Valutare attentamente i risultati di pazienti che potrebbero presentare questi anticorpi.

IRMA ACTH

REF IM2030, B89463

ENSAYO INMUNORADIOMETRICO PARA LA DETERMINACIÓN, IN VITRO, DE LA ACTH EN PLASMA HUMANO

Para uso en diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO

El ensayo inmunoradiométrico de ACTH es del tipo « sándwich » donde la ACTH es modificada químicamente por succinilización, pasando a succinil ACTH (sACTH).

La ACTH se encuentra en diferentes especies biológicas y es muy inestable. Por esas dos razones, es muy difícil inmunizar animales contra la hormona humana para la producción de anticuerpos con suficiente afinidad para el uso de análisis inmunoradiométricos. La modificación química humana por succinilización de la ACTH permite diferenciarla de la ACTH endógena en animales inmunizados. Esta modificación aumenta su estabilidad. De esta forma se obtienen anticuerpos monoclonales de alta afinidad para la ACTH humana succinilada. La especificidad de los anticuerpos utilizados en este ensayo requiere de dicha modificación química en las muestras. Esta se lleva a cabo con los reactivos que se encuentran en este equipo. Es importante señalar que la modificación química de las muestras estabiliza la ACTH de tal forma que facilita su manipulación.

El equipo contiene tres anticuerpos monoclonales dirigidos contra tres epítomos diferentes de la ACTH, los cuales no son competitivos entre sí. Las muestras modificadas y los calibradores se incuban en tubos recubiertos con los dos primeros anticuerpos monoclonales. Después de ésta primera incubación, se aspira el contenido de los tubos cuidadosamente. Posteriormente se adiciona una solución con el tercer anticuerpo monoclonal marcado con I^{125} . Después de la segunda incubación, se aspira el contenido de los tubos y estos se lavan dos veces para eliminar el exceso de anticuerpo marcado con I^{125} . Se determina la radioactividad enlazada con ayuda de un contador gamma. Los valores desconocidos se determinan mediante interpolación en la curva estándar. Las concentraciones de ACTH son directamente proporcionales a la radioactividad medida.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Precauciones generales

- Los viales de los calibradores y controles deben ser abiertos durante el menor tiempo posible, para así evitar evaporaciones excesivas.
- Permitir que los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de su uso.
- No mezclar los reactivos de lotes diferentes.
- Incluir una curva estándar en cada ensayo.
- La calibración correcta del Agitador es muy importante para la reproducibilidad del análisis.
- Se recomienda realizar el ensayo por duplicado.
- Cada tubo debe estar utilizado solamente una vez.

Seguridad radiológica

La compra, posesión, uso y transferencia de material radiactivo están sujetas a las disposiciones legales del país en el que se las utiliza. El cumplimiento de las normas básicas de seguridad radiológica debe proporcionar una protección adecuada.

- No se debe comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en presencia de materiales radiactivos.
- No pipetear las soluciones radiactivas con la boca.
- Evitar cualquier contacto con materiales radiactivos mediante el uso de guantes y bata de laboratorio.
- Toda manipulación de material radiactivo debe realizarse en el lugar adecuado, alejado de corredores y espacios ocupados.
- Los materiales radiactivos deben almacenarse en el contenedor aprobado en una zona especializada.
- Se debe llevar y conservar actualizado un registro de las entradas y almacenamiento de todos los productos radiactivos.
- El equipo y material de vidrio de laboratorio que son objeto de contaminación se deben separar para evitar la contaminación con otros radioisótopos.

- Cada caso de contaminación radiactiva, o de pérdida de materiales radiactivos se debe resolver de acuerdo con los procedimientos establecidos.
- El desecho radiactivo debe manipularse de acuerdo a las reglas establecidas por el país donde se utiliza.

Azida de sodio



Algunos reactivos contienen azida de sodio como conservador. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo, el cobre y el bronce para formar azidas metálicas explosivas. Deseche los reactivos a través del sistema de drenaje mediante lavado con grandes cantidades de agua.

Material de origen humano

Ciertos reactivos de este equipo son de origen humano y fueron negativos a las pruebas de HIV 1, de HIV 2; de HCV, así como de hepatitis B (Hbs Ag). Sin embargo, deben manejarse como si fueran capaces de transmitir enfermedad. Ninguna prueba conocida puede ofrecer la seguridad completa de la ausencia de agentes virulentos. Maneje estos reactivos con todas las precauciones necesarias.

Los materiales de origen humano deben manejarse como si fueran capaces de transmitir hepatitis o SIDA. Los desperdicios deben eliminarse según los reglamentos nacionales actuales.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

Wash Solution (20X)	PELIGRO	
		
H360		Puede perjudicar a la fertilidad o dañar al feto.
P201		Procurarse las instrucciones antes del uso.
P280		Use guantes, ropa y equipo de protección para los ojos y la cara.
P308+P313		EN CASO DE exposición confirmada o supuesta: consultar a un médico. Ácido bórico 0,1 - 0,3% Sodio tetraborato decahidrato 0,1 - 0,3%
Succinylation Reagent	ATENCIÓN	
		
H302		Nocivo en caso de ingestión.
H319		Provoca irritación ocular grave.
H335		Puede irritar las vías respiratorias.
P261		Evite respirar vapores.
P280		Use guantes, ropa y equipo de protección para los ojos y la cara.
P304+P340		EN CASO DE INHALACIÓN: transporte a la persona al aire libre y manténgala en reposo en una posición que le facilite la respiración.
P312		Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico si la persona se encuentra mal.
P337+P313		Si la irritación ocular persiste: consultar a un médico.
P403+P233		Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener el recipiente herméticamente cerrado.
		Anhídrido succínico > 95%
Calibrators	ATENCIÓN	



H315	Provoca irritación cutánea.
H319	Provoca irritación ocular grave.
H335	Puede irritar las vías respiratorias.
P261	Evite respirar vapores.
P271	Utilizar sólo al aire libre o en un lugar bien ventilado.
P280	Use guantes, ropa y equipo de protección para los ojos y la cara.
P302+P352	EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.
P304+P340	EN CASO DE INHALACIÓN: transporte a la persona al aire libre y manténgala en reposo en una posición que le facilite la respiración.
P305+P351+P338	EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.
P312	Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico si la persona se encuentra mal.
P332+P313	En caso de irritación cutánea: consultar a un médico.
P337+P313	Si la irritación ocular persiste: consultar a un médico.
P362+P364	Quitar la ropa contaminada y lavarla antes de usarla.
P403+P233	Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener el recipiente herméticamente cerrado.
P405	Guardar bajo llave.
P501	Eliminar el contenido/recipiente conforme a las normativas locales/nacionales Dimetilsulfóxido Anhídrido succínico Hidróxido potásico

DMSO

ATENCIÓN



H227	Líquido combustible
H315	Provoca irritación cutánea.
H319	Provoca irritación ocular grave.
H335	Puede irritar las vías respiratorias.
P261	Evite respirar vapores.
P280	Use guantes, ropa y equipo de protección para los ojos y la cara.
P304+P340	EN CASO DE INHALACIÓN: transporte a la persona al aire libre y manténgala en reposo en una posición que le facilite la respiración.
P312	Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico si la persona se encuentra mal.

P337+P313

Si la irritación ocular persiste: consultar a un médico.

P403+P233

Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener el recipiente herméticamente cerrado.
Dimetilsulfóxido > 95%



La hoja de datos de seguridad está disponible en techdocs.beckmancoulter.com

RECOLECCIÓN, PROCESAMIENTO, ALMACENAMIENTO Y DILUCION DE LAS MUESTRAS

- Recoger la sangre en tubos de vidrio siliconizados o de plástico que contengan EDTA. No usar heparina como anticoagulante. No utilizar tubos sin siliconizar, estos absorben la ACTH.
- Separar el suero o el plasma de las células mediante centrifugación entre 2 y 8 °C.
- Debido a que la ACTH es muy inestable, las muestras de plasma deben almacenarse por debajo de -18 °C, a menos que el análisis se realice inmediatamente. Preparar alícuotas para evitar repetidas descongelaciones y congelaciones.

Dado que la estabilización de la ACTH se realiza por succinilación, las muestras de plasma deben ser acetiladas inmediatamente después de la centrifugación siguiendo el protocolo del apartado Procedimiento de análisis. Las muestras succiniladas pueden guardarse hasta 7 días entre 2 y 8 °C. Almacenar las muestras a <-18 °C si se requiere realizar el análisis posteriormente. No es necesario hacer alícuotas, ya que la ACTH succinilada es insensible a repetidas descongelaciones y congelaciones.

- Succinilar y diluir con el calibrador Cero si las muestras están a concentraciones más altas que el calibrador más alto.

MATERIALES PROPORCIONADOS

Todos los reactivos del equipo conservados sin abrir a 2-8 °C son estables, hasta la fecha de caducidad mencionada sobre el equipo. Las fechas de caducidad impresas sobre las etiquetas de los frascos, aplicables únicamente para períodos largos de almacenaje de reactivos por el fabricante, antes del ensamblaje. No tener en cuenta.

Las condiciones de almacenamiento de los reactivos después de la reconstitución o dilución se indican en el párrafo Procedimiento.

Equipo para la determinación de ACTH 100 tubos (Cat. #IM2030)

Tubos recubiertos con anticuerpo monoclonal anti-sACTH: 2 x 50 tubos (listos para su uso)

Anticuerpo monoclonal anti-sACTH marcado con I¹²⁵: un frasco de 11 mL (listo para su uso).

El frasco contiene 814 kBq de inmunoglobulinas marcadas con I¹²⁵ en la fecha de fabricación, en presentación líquida con proteínas y azida de sodio (< 0,1 %) y un colorante.

Calibradores: cinco frascos de 2 mL + un frasco del calibrador Cero de 4 mL (listos para su uso)

Los frascos contienen suero humano tratado con anhídrido succínico. Estos se encuentran listos para su uso y ya no deben ser modificados químicamente.

Los frascos calibradores contienen entre 0 hasta aproximadamente 1500 pg/mL sACTH sintética en suero humano y azida de sodio (< 0,1 %). La concentración exacta se indica en la etiqueta. Los calibradores se calibraron frente al estándar internacional NIBSC 74/555.

Controles: dos frascos (liofilizados)

Cuidado: Debido a la inestabilidad de la molécula de ACTH, se proporcionan dos frascos controles en el equipo. No conservar los sueros controles sin modificar con anhídrido succínico después de la reconstitución, aun cuando se congelen. Utilizar el segundo frasco para un nuevo ensayo.

Los frascos contienen sACTH sintética liofilizada en suero humano y azida de sodio. Los valores esperados se encuentran en el intervalo de concentración que se indican en el suplemento.

Solución alcalina: un frasco de 15 mL (listo para su uso)

La solución tampón contiene azida de sodio (<0,1 %).

Reactivo de succinilación: un vial (polvo)

El vial contiene 600 mg de anhídrido succínico.

DMSO (Dimetilsulfoxido): un frasco de 3 mL (listo para su uso)

Solución de DMSO con rojo fenol. Deje que el DMSO se equilibre a temperatura ambiente hasta que quede totalmente fundido. Mezcle suavemente antes de usar.

Solución de lavado (20x): un frasco de 50 mL

La solución concentrada debe diluirse antes de su uso.

Equipo para la determinación de ACTH 50 tubos (Cat. #B89463)

Tubos recubiertos con anticuerpo monoclonal anti-sACTH: 1 x 50 tubos (listos para su uso)

Anticuerpo monoclonal anti-sACTH marcado con I¹²⁵: un frasco de 11 mL (listo para su uso).

Calibradores: cinco frascos de 2 mL + un frasco del calibrador Cero de 4 mL (listos para su uso)

Controles: dos frascos (lío-filizados)

Solución alcalina: un frasco de 15 mL (listo para su uso)

Reactivo de succinilación: un vial (polvo)

DMSO (Dimetilsulfoxido): un frasco de 3 mL (listo para su uso)

Solución de lavado (20x): un frasco de 50 mL

MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

Además del equipo normal de laboratorio se requiere lo siguiente:

- Tubos de polipropileno.
- Micropipetas de precisión (300 µL; 500 µL).
- Pipetas semiautomáticas (50 µL; 100 µL; 250 µL, 2 mL).
- Mezclador tipo vórtex.
- Agitador horizontal u orbital.
- sistema de aspiración.
- contador gamma calibrado para I125.

PROCEDIMIENTO

Preparación de los reactivos

Permita que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente.

Reconstitución del suero control

Reconstituir el contenido de los frascos con el volumen de agua destilada señalado en la etiqueta. Después de la reconstitución, esperar 10 - 20 minutos (max) y agitar vigorosamente evitando la formación de espuma antes de repartir la solución en los tubos. No conservar los sueros controles sin modificar con anhídrido succínico después de la reconstitución, aun cuando se congelen. Utilizar el segundo frasco para un nuevo ensayo.

Reconstitución del reactivo de succinilación

El contenido del vial se reconstituye con el volumen de DMSO indicado en la etiqueta. Mezcle bien antes de usar y compruebe visualmente que se ha disuelto por completo el anhídrido succínico. Tras la reconstitución, el reactivo es estable a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad del kit. El ligero bronceado que se observa en ocasiones durante el almacenamiento no afecta de ningún modo al rendimiento del reactivo de succinilación.

Preparación de la solución de lavado

Verter el contenido del frasco en 950 mL de agua destilada y homogeneizar. La solución diluida se puede conservar a 2 - 8 °C hasta la fecha de caducidad del equipo.

Procedimiento de análisis

Succinilación de los sueros controles y las muestras

Cuidado: No succinilar los calibradores	
A un tubo de polipropileno, adicionar secuencialmente en este orden	
500 µL de los sueros controles o las muestras. 250 µL solución alcalina 50 µL del reactivo de succinilación	
Agitar inmediatamente en el vortex Incubar 5 minutos entre 18-25 °C	

Nota 1: Los volúmenes indicados en el recuadro son suficientes para realizar el ensayo por duplicado. Cuando se realizan ensayos por simple reducir a la mitad los volúmenes de las muestras, de la solución alcalina y del reactivo de succinilación.

Nota 2: El indicador de color del reactivo de succinilación debe volverse amarillo cuando la reacción a ocurrido normalmente. Si éste se torna violeta indica que una reacción anormal a ocurrido.

Paso Inmunológico1	Paso Inmunológico2	Contaje
A los tubos recubiertos de anticuerpo agregar:	A cada tubo, añadir:	Lavar dos veces con 2 mL de solución de lavado
300 µL del calibrador, o de las muestras succiniladas o los sueros controles succinilados.	100 µL del trazador	Cuentas incorporadas cpm (B) y las cpm totales (T) por 1 min.
Incubar 60 min. entre 18-25 °C con agitación (>280 rpm).	Incubar 2 hrs entre 18-25 °C en agitación (>280 rpm).	
Aspirar cuidadosamente el contenido de los tubos.	Aspirar cuidadosamente el contenido de los tubos. (excepto el de los 2 tubos "cpm total")	

*Agregar 100 µL de trazador a 2 tubos adicionales para obtener las cpm totales.

RESULTADOS

Los resultados se obtienen por interpolación en la curva estándar. La curva sirve para determinar la concentración de la ACTH en las muestras medidas al mismo tiempo que los calibradores.

Curva estándar

Los resultados del departamento de control de calidad se calcularon usando el ajuste de curva *spline* con radioactividad determinada ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) en el eje logarítmico vertical y la concentración de analitos de los calibradores en el eje logarítmico horizontal (pg/mL).

Otros métodos de reducción de datos pueden dar resultados ligeramente diferentes.

Actividad total: 257 224 cpm				
Calibradores	ACTH (pg/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	cpm_{cal} - cpm_{cal0}
0	0	182	0,07	-
1	8,2	829	0,32	647
2	26,0	1847	0,72	1665
3	87,0	5505	2,14	5323
4	451	23 888	9,30	23 706
5	1322	57 455	22,34	57 273

(Ejemplo de curva estándar, no utilizar para realizar los cálculos)

Muestras

En cada muestra, localice los cpm o el valor B/T del eje vertical y lea la concentración de ACTH correspondiente en el eje horizontal.

Nota: La concentración indicada en cada frasco considera la dilución de la muestra debido al tratamiento de succinilación. Esta dilución no debe ser considerada cuando se calcula la concentración en muestra (determinación directa en la curva estándar).

VALORES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia. Los valores que se muestran a continuación fueron obtenidos de sujetos sanos y deben de considerarse solo como orientativos.

Número	Promedio	Mediana	2,5 percentil	97,5 percentil
42	18,5 pg/mL	15 pg/mL	7 pg/mL	41 pg/mL

CONTROL DE CALIDAD

La obtención de unos resultados óptimos implica la utilización de los sueros control en cada serie de experimentos para asegurar la calidad de los resultados obtenidos. Dichos controles deben ser procesados de la misma manera que las muestras a analizar. Se recomienda que los resultados sean analizados utilizando los métodos estadísticos apropiados.

En caso de detectar un deterioro en el emvasado del producto ó que los resultados expresen una alteración en las características del mismo, contactar con el Distribuidor local ó notificar a la dirección de e-mail: imunochem@beckman.com

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

(Ver la hoja "APPENDIX" para más detalles)

Sensibilidad

Sensibilidad Analítica: 0,31 pg/mL

Sensibilidad funcional: 4,82 pg/mL

Especificidad

Los anticuerpos utilizados en el equipo son muy específicos para la ACTH. La reactividad cruzada frente a moléculas similares (ACTH 1-24; 1-10; 18-39; 11-24; α MSH and POMC) es muy baja tanto en ausencia (reacciones cruzadas) como en presencia (interferencias) de ACTH.

Precisión

Intra- ensayo

Las muestras se evaluaron 25 veces en las mismas series. Los coeficientes de variación fueron iguales o por debajo de 10,0 %.

Inter-análisis

Las muestras se evaluaron por duplicado en 10 series diferentes. Los coeficientes de variación fueron iguales o por debajo de 10,8 %.

Precisión

Prueba de dilución

Las muestras altamente concentradas se succinilaron y se diluyeron serialmente con el calibrador Cero. Los porcentajes de recuperación fueron entre 82,3 % y 119 %.

Prueba de recuperación

A muestras de baja concentración se les añadieron concentraciones conocidas de ACTH. Los porcentajes recuperados fueron entre 97,2 % y 116 %.

Rango de medida (a partir de la sensibilidad analítica del calibrador más alto): 0.31 hasta aproximadamente 1500 pg/mL.

LIMITACIONES

El no respetar las instrucciones de uso puede afectar significativamente a los resultados.

Los resultados deberán ser interpretados como una ayuda dentro de la situación clínica del paciente, incluyendo la historia clínica, así como los datos provenientes de otras testas adicionales.

La heparina se une a la ACTH por lo que no debe ser utilizada. Las muestras deben recogerse en EDTA.

En los ensayos en los que se utilizan anticuerpos existe la posibilidad de que se produzcan interferencias debido a la presencia de anticuerpos heterófilos en la muestra del paciente. Los pacientes que hayan estado en contacto regularmente con animales o hayan recibido inmunoterapia o procedimientos diagnósticos con inmunoglobulinas o fragmentos de inmunoglobulinas pueden producir anticuerpos, p.ej. HAMA, que interfieren con los inmunoensayos. Esos anticuerpos que crean interferencias pueden causar resultados erróneos. Evaluar cuidadosamente los resultados de los pacientes que se sospeche que puedan tener esos anticuerpos.

IRMA ACTH

REF IM2030, B89463

ΑΝΟΣΟΡΑΔΙΟΜΕΤΡΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΓΙΑ ΤΟΝ IN VITRO ΠΟΣΟΤΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ACTH ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΠΛΑΣΜΑ

Για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Η ανοσοραδιομετρική εξέταση της ACTH είναι εξέταση τύπου "σάντουιτς" στην οποία πρώτα η ACTH τροποποιείται χημικά με ακυλίωση (sACTH).

Η ACTH συντηρείται σε υψηλό βαθμό σε διαφορετικά βιολογικά είδη και είναι ασταθής. Για αυτούς τους δύο λόγους είναι ιδιαίτερα δύσκολο να ανοσοποιηθούν τα ζώα κατά της ανθρώπινης ορμόνης για την παραγωγή αντισωμάτων με επαρκώς υψηλή συγγένεια, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν σε μια ανοσοραδιομετρική εξέταση. Η χημική τροποποίηση της ανθρώπινης ACTH με ακυλίωση επιτρέπει τη διαφοροποίησή της από την ενδογενή ACTH των ανοσοποιημένων ζώων και ενισχύει τη σταθερότητα της. Μ' αυτόν τον τρόπο προκύπτουν μονοκλωνικά αντισώματα υψηλής συγγένειας με την ακυλιωμένη ανθρώπινη ACTH. Η εξειδίκευση των αντισωμάτων που χρησιμοποιούνται στη εξέταση δημιουργεί την απαίτηση η ίδια χημική τροποποίηση να εφαρμοστεί στην περίπτωση των δειγμάτων. Αυτό επιτυγχάνεται εύκολα και με μεγάλη αναπαραγωγιμότητα, με τη χρήση του αντιδραστηρίου ακυλίωσης που παρέχεται με το kit. Επιπλέον, η χημική τροποποίηση των δειγμάτων σταθεροποιεί την ACTH και διευκολύνει έτσι τον χειρισμό των δειγμάτων.

Στο kit χρησιμοποιούνται τρία μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού, που κατευθύνονται κατά τριών διαφορετικών επίτοπων του μορίου της sACTH και δεν ανταγωνίζονται μεταξύ τους. Τα τροποποιημένα δείγματα και τα βαθμονομητές επωάζονται πρώτα σε σωληνάρια επιστρωμένα με δύο μονοκλωνικά αντισώματα. Μετά την πρώτη επώαση αποχύνονται προσεκτικά τα υγρά περιεχόμενα των σωληναρίων. Στη συνέχεια προστίθεται σε κάθε σωληνάριο διάλυμα που περιέχει ένα τρίτο μονοκλωνικό αντίσωμα, επισημασμένο με ¹²⁵I. Μετά από μια δεύτερη επώαση αποχύνονται τα υγρά περιεχόμενα των σωληναρίων και, αφού τα σωληνάρια πλυθούν δύο φορές, μετράται η δεσμευμένη ραδιενέργεια. Οι άγνωστες τιμές προσδιορίζονται με παρεμβολή σε πρότυπη καμπύλη. Η συγκέντρωση της ACTH στα δείγματα είναι ευθέως ανάλογη της ραδιενέργειας.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Γενικές παρατηρήσεις:

- Τα φιαλίδια των ορών βαθμονόμησης και των ορών ελέγχου πρέπει να ανοίγονται όσο το δυνατόν λιγότερο, προς αποφυγήν εξατμίσεως του περιεχομένου.
- Αφήστε τα αντιδραστήρια να φτάσουν σε ισορροπία σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση.
- Μην ανακατεύετε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες.
- Κάνετε ταυτόχρονα την πρότυπη καμπύλη και τον ποσοτικό προσδιορισμό των δειγμάτων.
- Η σωστή ρύθμιση του σέικερ είναι απαραίτητη για την αναπαραγωγιμότητα του ποσοτικού προσδιορισμού.
- Σας συστήνεται να πραγματοποιείτε δύο φορές τον κάθε προσδιορισμό.
- Κάθε σωληνάριο πρέπει να χρησιμοποιηθεί μόνο μια φορά.

Προστασία από την ιονίζουσα ακτινοβολία

Η αγορά, η κατοχή, η χρήση και η ανταλλαγή του ραδιενεργού υλικού υπόκειται στους κανονισμούς της χώρας στην οποία το υλικό αυτό χρησιμοποιείται. Η συμμόρφωση με τους βασικούς κανόνες ασφάλειας από την ακτινοβολία παρέχει επαρκή προστασία. Ορισμένοι από αυτούς είναι :

- Υπό την παρουσία ραδιενεργών υλικών, μην καταναλώνετε τρόφιμα ή ποτά, μην καπνίζετε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά.
- Μη χρησιμοποιείτε το στόμα για να πιπετάρετε τα ραδιενεργά υλικά.
- Αποφύγετε κάθε άμεση επαφή με τα ραδιενεργά υλικά, και χρησιμοποιείτε γάντια και εργαστηριακή ποδιά.
- Κάθε χειρισμός ραδιενεργού υλικού πρέπει να γίνεται σε κατάλληλο χώρο, μακριά από διαδρόμους και άλλα πολυσύχναστα μέρη.
- Το αρχείο παραλαβής και αποθήκευσης ραδιενεργών υλικών πρέπει να είναι πάντα ενημερωμένο.
- Το αρχείο παραλαβής και αποθήκευσης ραδιενεργών υλικών πρέπει να είναι πάντα ενημερωμένο.

- Ο εργαστηριακός εξοπλισμός ή τα γυάλινα σκεύη που έχουν μολυνθεί από ραδιενεργά υλικά πρέπει να απομονώνονται, προκειμένου να αποφευχθεί μόλυνση από διαφορετικά ραδιοϊσότοπα.
- Κάθε περίπτωση ραδιενεργής μόλυνσης ή απώλειας ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να επιλύεται με βάση τις ισχύουσες διαδικασίες.
- Ο χειρισμός των ραδιενεργών αποβλήτων πρέπει να ακολουθεί τους κανονισμούς της χώρας στην οποία χρησιμοποιείται το ραδιενεργό υλικό.

Αζίδιο του Νατρίου



Κάποια αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο του Νατρίου ως συντηρητικό. Το αζίδιο του Νατρίου μπορεί να αντιδράσει με το χαλκό ή το μόλυβδο προς το σχηματισμό εκρηκτικών αζιδίων των μετάλλων. Η απόρριψη των αντιδραστηρίων πρέπει να γίνεται μέσα από το υδραυλικό σύστημα, χρησιμοποιώντας μεγάλες ποσότητες νερού.




Υλικό ανθρώπινης προέλευσης

Τα ανθρώπινης προέλευσης υλικά που περιέχονται στα αντιδραστήρια του kit βρέθηκαν αρνητικά σε ότι αφορά στα αντισώματα αντι-HIV 1 και HIV 2, στα αντισώματα HCV και το επιφανειακό αντιγόνο της Ηπατίτιδας Β (HbsAg). Παρόλα αυτά, ο χειρισμός τους πρέπει να γίνεται σαν να ήταν ικανά να μεταδώσουν τις ασθένειες. Δεν υπάρχει κάποια γνωστή μέθοδος ελέγχου που να διασφαλίζει με απόλυτη βεβαιότητα ότι δεν υπάρχει παράγοντας μόλυνσης, γι'αυτό το λόγο είναι απαραίτητο να λαμβάνονται προφυλάξεις κατά τη διάρκεια του χειρισμού.

Όλα τα δείγματα πλάσματος πρέπει να τα χειρίζεστε ως ικανά να μεταδώσουν ηπατίτιδα ή AIDS. Δημιουργημένο απόρριμμα να εκκαθαρισθεί σύμφωνα με ισχύω κανονισμό.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ ΠΕΣ

Wash Solution (20X)	ΚΙΝΔΥΝΟΣ	
		
H360		Μπορεί να βλάψει τη γονιμότητα ή το έμβryo.
P201		Εφοδιαστείτε με τις ειδικές οδηγίες πριν από τη χρήση.
P280		Να φοράτε προστατευτικά γάντια, προστατευτικά ενδύματα και μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/το πρόσωπο.
P308+P313		Σε περίπτωση έκθεσης ή πιθανότητας έκθεσης: συμβουλευθείτε/επισκεφθείτε γιατρό. Βορικό οξύ 0,1 - 0,3% Δεκαένυδρο βορικό νάτριο 0,1 - 0,3%
Succinylation Reagent	ΠΡΟΣΟΧΗ	
		
H302		Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης.
H319		Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.
H335		Μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό της αναπνευστικής οδού.
P261		Αποφεύγετε να αναπνέετε ατμούς.
P280		Να φοράτε προστατευτικά γάντια, προστατευτικά ενδύματα και μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/το πρόσωπο.
P304+P340		ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΙΝΟΗΣ: Μεταφέρετε το άτομο στον καθαρό αέρα και αφήστε το να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή.

	P312	Καλέστε το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ ή ένα γιατρό εάν αισθανθείτε αδιαθεσία.			Διμεθυσουλφοξιδιο Ηλεκτρικός ανυδρίτης Υδροξείδιο του καλίου
	P337+P313	Εάν δεν υποχωρεί ο οφθαλμικός ερεθισμός: συμβουλευθείτε/επισκεφθείτε γιατρό.	DMSO	ΠΡΟΣΟΧΗ	
	P403+P233	Αποθηκεύεται σε καλά αεριζόμενο χώρο. Ο περιέκτης διατηρείται ερμητικά κλειστός. Ηλεκτρικός ανυδρίτης > 95%			
Calibrators	P403+P233	Αποθηκεύεται σε καλά αεριζόμενο χώρο. Ο περιέκτης διατηρείται ερμητικά κλειστός. Ηλεκτρικός ανυδρίτης > 95%		H227 H315 H319 H335	Καύσιμο υγρό. Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος. Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό. Μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό της αναπνευστικής οδού.
	ΠΡΟΣΟΧΗ			H227 H315 H319 H335	Μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό της αναπνευστικής οδού.
				P261 P280	Αποφεύγετε να αναπνέετε ατμούς. Να φοράτε προστατευτικά γάντια, προστατευτικά ενδύματα και μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/το πρόσωπο.
	H315	Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος.		P261 P280	Αποφεύγετε να αναπνέετε ατμούς. Να φοράτε προστατευτικά γάντια, προστατευτικά ενδύματα και μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/το πρόσωπο.
	H319	Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.		P261 P280	Αποφεύγετε να αναπνέετε ατμούς. Να φοράτε προστατευτικά γάντια, προστατευτικά ενδύματα και μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/το πρόσωπο.
	H335	Μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό της αναπνευστικής οδού.		P261 P280	Αποφεύγετε να αναπνέετε ατμούς. Να φοράτε προστατευτικά γάντια, προστατευτικά ενδύματα και μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/το πρόσωπο.
	P261	Αποφεύγετε να αναπνέετε ατμούς.		P304+P340	ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρετε το άτομο στον καθαρό αέρα και αφήστε το να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή.
	P271	Να χρησιμοποιείται μόνο σε ανοικτό ή καλά αεριζόμενο χώρο.		P312	Καλέστε το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ ή ένα γιατρό εάν αισθανθείτε αδιαθεσία.
	P280	Να φοράτε προστατευτικά γάντια, προστατευτικά ενδύματα και μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/το πρόσωπο.		P337+P313	Εάν δεν υποχωρεί ο οφθαλμικός ερεθισμός: συμβουλευθείτε/επισκεφθείτε γιατρό.
	P302+P352	ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ: πλύντε με άφθονο νερό και σαπούνι.		P403+P233	Αποθηκεύεται σε καλά αεριζόμενο χώρο. Ο περιέκτης διατηρείται ερμητικά κλειστός. Διμεθυσουλφοξιδιο > 95%
	P304+P340	ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρετε το άτομο στον καθαρό αέρα και αφήστε το να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή.			
	P305+P351+P338	ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εφόσον είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλύνετε.			Το Δελτίο δεδομένων ασφάλειας είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση techdocs.beckmancoulter.com
	P312	Καλέστε το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ ή ένα γιατρό εάν αισθανθείτε αδιαθεσία.			
	P332+P313	Εάν παρατηρηθεί ερεθισμός του δέρματος: συμβουλευθείτε/επισκεφθείτε γιατρό.			
	P337+P313	Εάν δεν υποχωρεί ο οφθαλμικός ερεθισμός: συμβουλευθείτε/επισκεφθείτε γιατρό.			
	P362+P364	Βγάλτε τα μολυσμένα ρούχα και πλύντε τα πριν τα χρησιμοποιήσετε.			
	P403+P233	Αποθηκεύεται σε καλά αεριζόμενο χώρο. Ο περιέκτης διατηρείται ερμητικά κλειστός.			
	P405	Φυλάσσεται κλειδωμένο.			
	P501	Διάθεση του περιεχομένου/περιέκτη σύμφωνα με τους τοπικούς/εθνικούς κανονισμούς			

ΣΥΛΛΟΓΗ, ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ, ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΑΡΑΙΩΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- Συλλέξτε το αίμα σε γυάλινα σωληνάρια με επένδυση σιλικόνης ή σε πλαστικά σωληνάρια με EDTA. Μη χρησιμοποιείτε ηπαρίνη ως αντιπηκτικό. Μη χρησιμοποιείτε γυάλινα σωληνάρια χωρίς επένδυση σιλικόνης προσροφούν την ACTH.
- Διαχωρίστε το συντομότερο δυνατόν το πλάσμα με φυγοκέντρηση στους 2-8 °C.
- Δεδομένου ότι η ACTH είναι πολύ ασταθής, τα δείγματα πλάσματος πρέπει να διατηρηθούν σε θερμοκρασία χαμηλότερη των -18 °C, εκτός αν η εξέταση γίνει αμέσως. Τα δείγματα πρέπει να είναι χωρισμένα σε μικρότερες ποσότητες, ώστε να αποφεύγεται η επαναλαμβανόμενη κατάψυξη και απόψυξη.
Από την άποψη της σταθεροποίησης της ACTH μέσω ακυλίωσης, τα δείγματα πλάσματος μπορούν επίσης να ακυλιωθούν αμέσως μετά τη φυγοκέντρηση σύμφωνα με το πρωτόκολλο της παραγράφου Διαδικασία εξέτασης. Τα ακυλιωμένα δείγματα μπορούν έτσι να διατηρηθούν 7 ημέρες στους 2- 8 °C. Για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα, αποθηκεύστε τα σε θερμοκρασία χαμηλότερη των -18 °C. Δεν είναι απαραίτητο να χωρίσετε τα ακυλιωμένα δείγματα σε μικρότερες ποσότητες, δεδομένου ότι η ακυλιωμένη ACTH είναι σχετικά απαθής στην επαναλαμβανόμενη κατάψυξη και απόψυξη.
- Αν τα δείγματα έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση από το βαθμονομητές με την υψηλότερη συγκέντρωση, πρέπει να ακυλιωθούν και ύστερα να αραιωθούν στο μηδενικό βαθμονομητές.

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

Όλα τα αντιδραστήρια είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του kit, όταν αποθηκεύονται σε θερμοκρασία 2-8 °C. Οι ημερομηνίες λήξης που αναγράφονται στις ετικέτες των φιαλιδίων αφορούν αποκλειστικά στη μακροπρόθεσμη αποθήκευση των αντιδραστηρίων από τον κατασκευαστή, πριν από τη συναρμολόγηση του kit. Να μη λαμβάνονται υπόψη.

Οι συνθήκες αποθήκευσης των αντιδραστηρίων μετά από ανασύσταση ή αραίωση αναφέρονται στην παράγραφο «Διαδικασία».

Kit για τον προσδιορισμό της ACTH: 100 σωληνάρια (αρ. κατ. IM2030)

Σωληνάρια επιστρωμένα με μονοκλωνικά αντισώματα κατά της sACTH: 2 x 50 σωληνάρια (έτοιμα προς χρήση)

Μονοκλωνικό αντίσωμα κατά της sACTH επισημασμένο με ¹²⁵I: ένα φιαλίδιο των 11 mL (έτοιμο προς χρήση)

Το φιαλίδιο περιέχει, την ημέρα που παρασκευάζεται, 814 kBq επισημασμένων με Ιώδιο ¹²⁵ ανοσοφαιρινών σε υγρή μορφή με πρωτεΐνη, αζίδιο του Νατρίου (< 0,1%) και μια χρωστική.

Βαθμονομητές: 5 φιαλίδια των 2 mL + 1 φιαλίδιο "μηδενικού" βαθμονομητής των 4 mL (έτοιμα προς χρήση)

Τα βαθμονομητές περιέχουν ανθρώπινο ορό επεξεργασμένο με ηλεκτρικό ανυδρίτη. Είναι έτοιμα προς χρήση και δεν πρέπει να τροποποιηθούν πάλι με χημικό τρόπο.

Τα βαθμονομητές φιαλίδια περιέχουν από 0 μέχρι κατά προσέγγιση 1.500 pg/mL συνθετικής sACTH σε ανθρώπινο ορό και αζίδιο του Νατρίου (< 0,1%). Η ακριβής συγκέντρωση αναγράφεται στην ετικέτα κάθε φιαλιδίου. Τα βαθμονομητές είναι βαθμονομημένα με βάση το διεθνές πρότυπο NIBSC 74/555.

Ορός ελέγχου: 2 φιαλίδια (λυοφιλημένα)

Προσοχή: Λόγω της αστάθειας του μορίου της ACTH, δύο φιαλίδια του ίδιου ορού ελέγχου παρέχονται σε κάθε kit. Μετά την ανασύσταση, μην αποθηκεύσετε τον ορό ελέγχου χωρίς να έχει υποστεί επεξεργασία με ηλεκτρικό ανυδρίτη, ακόμη και κατεψυγμένο. Χρησιμοποιήστε το δεύτερο φιαλίδιο για μια άλλη σειρά μετρήσεων.

Τα φιαλίδια περιέχουν συνθετική ACTH λυοφιλημένη σε ανθρώπινο ορό. Οι αναμενόμενες τιμές κυμαίνονται μεταξύ των συγκεντρώσεων που αναγράφονται σε συμπληρωματικό φυλλάδιο.

Αλκαλικό διάλυμα: 1 φιαλίδιο των 15 mL (έτοιμο προς χρήση)

Το ρυθμιστικό περιέχει αζίδιο του Νατρίου (< 0,1%).

Αντιδραστήριο ακετυλίωσης: ένα φιαλίδιο (σκόνη)

Το φιαλίδιο περιέχει 600 mg ηλεκτρικού ανυδρίτη.

DMSO (διμεθυλοσουλφοξείδιο): 1 φιαλίδιο των 3 mL (έτοιμο προς χρήση)

Διάλυμα DMSO με ερυθρό της φαινόλης. Αφήστε το DMSO να εξισορροπηθεί σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι να διαλυθεί πλήρως. Αναμείξτε απαλά πριν από τη χρήση.

Διάλυμα πλύσης (20x): 1 φιαλίδιο των 50 mL

Το συμπυκνωμένο διάλυμα πρέπει να αραιωθεί πριν από τη χρήση.

Kit για τον προσδιορισμό της ACTH: 50 σωληνάρια (αρ. κατ. B89463)

Σωληνάρια επιστρωμένα με μονοκλωνικά αντισώματα κατά της sACTH: 1 x 50 σωληνάρια (έτοιμα προς χρήση)

Μονοκλωνικό αντίσωμα κατά της sACTH επισημασμένο με ¹²⁵I: ένα φιαλίδιο των 11 mL (έτοιμο προς χρήση)

Βαθμονομητές: 5 φιαλίδια των 2 mL + 1 φιαλίδιο "μηδενικού" βαθμονομητής των 4 mL (έτοιμα προς χρήση)

Ορός ελέγχου: 2 φιαλίδια (λυοφιλημένα)

Αλκαλικό διάλυμα: 1 φιαλίδιο των 15 mL (έτοιμο προς χρήση)

Αντιδραστήριο ακετυλίωσης: ένα φιαλίδιο (σκόνη)

DMSO (διμεθυλοσουλφοξείδιο): 1 φιαλίδιο των 3 mL (έτοιμο προς χρήση)

Διάλυμα πλύσης (20x): 1 φιαλίδιο των 50 mL

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Ο απαιτούμενος εργαστηριακός εξοπλισμός, επιπλέον του συνήθους, είναι ο εξής:

- σωληνάρια πολυπροπυλενίου.
- μικροπιπέτες ακριβείας (300 μL, 500 μL).
- ημιαυτόματες πιπέτες (50 μL, 100 μL, 250 μL, 2 mL).
- Μίξερ τύπου vortex.
- Shaker με οριζόντια πλατφόρμα παλινδρόμησης ή με πλατφόρμα ταλάντωσης.
- Σύστημα απόχυσης.
- Gamma counter σετ για Ιώδιο 125.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Αφήστε όλα τα αντιδραστήρια να φθάσουν σε ισορροπία σε θερμοκρασία δωματίου.

Προετοιμασία των δειγμάτων ελέγχου

Το περιεχόμενο του ενός από τα δύο φιαλίδια ανασυστάται με το όγκο απεσταγμένου νερού που αναγράφεται στην ετικέτα. Περιμένετε 10 - 20 λεπτά (max) μετά την ανασύσταση και ανακατέψτε ελαφρά στο vortex ώστε να μη δημιουργηθεί αφρός, πριν την διανομή στα σωληνάρια. Μετά την ανασύσταση μην αποθηκεύσετε τον ορό ελέγχου χωρίς να έχει υποστεί επεξεργασία με ηλεκτρικό ανυδρίτη, ακόμη και κατεψυγμένο. Χρησιμοποιήστε το δεύτερο φιαλίδιο για μια άλλη σειρά μετρήσεων.

Προετοιμασία του αντιδραστηρίου ακυλίωσης

Για την ανασύσταση του περιεχομένου του φιαλιδίου, χρησιμοποιείτε τον όγκο DMSO που αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλιδίου. Αναμείξτε επιμελώς πριν από τη χρήση και ελέγξτε οπτικά την πλήρη διάλυση του ηλεκτρικού ανυδρίτη. Μετά την ανασύσταση, το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό στους 2-8 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης του kit. Η μικρή αλλαγή στο χρώμα που παρατηρείται ενίοτε κατά τη φύλαξη δεν επηρεάζει κατά κανένα τρόπο την απόδοση του αντιδραστηρίου ακετυλίωσης.

Προετοιμασία του διαλύματος πλύσης

Προσθέστε το περιεχόμενο του φιαλιδίου σε 950 mL απεσταγμένου νερού και ομογενοποιήστε. Το αραιωμένο διάλυμα διατηρείται στους 2-8 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης του kit.

Διαδικασία εξέτασης

Ακυλίωση του ορού ελέγχου και των δειγμάτων

Προσοχή: μην ακυλώσετε τα βαθμονομητές
Σε ένα σωληνάριο πολυπροπυλενίου, προσθέστε διαδοχικά με αυτή τη σειρά:
500 μL δείγματος ή ορού ελέγχου
250 μL αλκαλικού διαλύματος
50 μL αντιδραστηρίου ακυλίωσης
Ανακινήστε αμέσως στο vortex
Επώαστε για 5 λεπτά στους 18-25 °C

Παρατήρηση 1: Οι όγκοι που αναφέρονται παραπάνω επαρκούν για να πραγματοποιηθεί δύο φορές ο κάθε προσδιορισμός. Για τους προσδιορισμούς που πραγματοποιούνται μια φορά, οι όγκοι του δείγματος, του αλκαλικού διαλύματος και του αντιδραστηρίου ακυλίωσης μπορούν να μειωθούν στο μισό.

Παρατήρηση 2: Ο χρωματικός δείκτης του αντιδραστηρίου ακυλίωσης πρέπει να γίνει κίτρινος, γεγονός που υποδεικνύει ότι η αντίδραση έχει γίνει

κανονικά. Μια μη φυσιολογική αντίδραση υποδεικνύεται από την εμμονή του χρώδους χρώματος.

Ανοσολογικό βήμα 1	Ανοσολογικό βήμα 2	Μέτρηση
Στα επιστρωμένα με αντίσωμα σωληνάκια προσθέστε:	Σε κάθε σωληνάριο προσθέστε:	Πλύνετε 2 φορές με 2 mL διαλύματος πλύσης.
300 µL βαθμονομητές, ακυλιωμένου δείγματος ή ακυλιωμένου ορού ελέγχου	100 µL ιχνηθέτη	Μετρήστε τη ραδιενέργεια των δεσμευμένων (B) και ολικών (T) κρούσεων Για 1 λεπτό.
Επωάστε 1 ώρα στους 18-25 °C με ανάδευση (>280 rpm).	Επωάστε για 2 ώρες στους 18-25 °C με ανάδευση (>280 rpm).	
Αποχύστε προσεχτικά το περιεχόμενο των σωληναρίων	Αποχύστε προσεχτικά το περιεχόμενο των σωληναρίων (εκτός των 2 σωληναρίων "ολικές κρούσεις")	

*Προσθέστε 100 µL ιχνηθέτη σε 2 επιπλέον σωληνάκια για να βρείτε τις ολικές κρούσεις.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα των δειγμάτων υπολογίζονται με παρεμβολή στην πρότυπη καμπύλη. Η καμπύλη χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων ACTH σε δείγματα που μετρώνται ταυτόχρονα με τα βαθμονομητές.

Πρότυπη καμπύλη

Τα αποτελέσματα στο τμήμα ποιοτικού ελέγχου υπολογίστηκαν μέσω προσαρμογής της καμπύλης *spline* με την προσδιορισθείσα ραδιενέργεια ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) στον κατακόρυφο άξονα και τη συγκέντρωση των βαθμονομητών στον οριζόντιο άξονα (pg/mL) της λογαριθμικής κλίμακας.

Άλλες μέθοδοι αναγωγής των δεδομένων μπορεί να δώσουν ελαφρώς διαφορετικά αποτελέσματα.

Ολική ραδιενέργεια: 257.224 cpm				
Βαθμονομητές	ACTH (pg/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{cal} - cpm_{cal0}$
0	0	182	0,07	-
1	8,2	829	0,32	647
2	26,0	1.847	0,72	1.665
3	87,0	5.505	2,14	5.323
4	451	23.888	9,30	23.706
5	1.322	57.455	22,34	57.273

(Παράδειγμα τυπικής καμπύλης, μην την χρησιμοποιείτε για υπολογισμούς)

Δείγματα

Για κάθε δείγμα, εντοπίστε την τιμή cpm ή B/T στον κατακόρυφο άξονα και διαβάστε την αντίστοιχη συγκέντρωση ACTH από τον οριζόντιο άξονα.

Σημείωση: Η συγκέντρωση που αναγράφεται σε κάθε βαθμονομητές φιαλίδιο λαμβάνει υπόψη τη διάλυση του δείγματος εξαιτίας του βήματος ακυλίωσης. Αυτή η διάλυση πρέπει να μη ληφθεί υπόψη κατά τον υπολογισμό της συγκέντρωσης στο δείγμα (άμεσος προσδιορισμός στην πρότυπη καμπύλη).

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Προτείνουμε το κάθε εργαστήριο να καθιερώσει τις δικές τους τιμές αναφοράς. Οι τιμές που ακολουθούν και που προέκυψαν από υγιή άτομα είναι απλώς ενδεικτικές.

Αριθμός	Μέσος όρος	Διάμεσος	2,5ο εκατοστ. τμήριο	97,5ο εκατοστ. τμήριο
42	18,5 pg/mL	15 pg/mL	7 pg/mL	41 pg/mL

ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Η σωστή εργαστηριακή πρακτική προϋποθέτει την τακτική χρήση δειγμάτων ελέγχου, προκειμένου να διασφαλιστεί η ποιότητα των αποτελεσμάτων. Η επεξεργασία των δειγμάτων αυτών πρέπει να γίνεται με τον ίδιο τρόπο με τον οποίο γίνεται η επεξεργασία των άγνωστων δειγμάτων. Επιπλέον, συστήνεται η ανάλυση των αποτελεσμάτων τους να γίνεται με τη βοήθεια των κατάλληλων στατιστικών μεθόδων.

Σε περίπτωση επιδείνωσης συσκευασίας ή εάν τα αποτελέσματα που προέκυψαν έχουν τροποποίηση απόδοσης, παρακαλώ ελάτε σε επαφή με τον τοπικό διανομέα σας ή χρησιμοποιήστε την ακόλουθη διεύθυνση ηλεκτρονικού ταχυδρομείου: imunochem@beckman.com

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

(βλέπε τη σελίδα "APPENDIX" για περισσότερες λεπτομέρειες)

Ευαισθησία

Ευαισθησία: 0,31 pg/mL

Λειτουργική ευαισθησία: 4,82 pg/mL

Εξειδίκευση

Το αντίσωμα που χρησιμοποιείται στην ανοσοεξέταση είναι υψηλά εξειδικευμένο για την ACTH. Εξαιρετικά χαμηλές διασταυρωτές αντιδραστικότητες παρατηρήθηκαν με αρκετά συγγενή μόρια (ACTH 1-24; 1-10; 18-39; 11-24; αMSH και POMC) είτε υπό την απουσία (διασταυρωτές αντιδραστικότητες) είτε υπό την παρουσία (παρεμβολή) της ACTH.

Ακρίβεια

Εντός της δοκιμής

Δείγματα εξετάστηκαν 25 φορές στην ίδια σειρά. Οι συντελεστές απόκλισης που προέκυψαν ήταν μικρότεροι ή ίσοι με 10,0%.

Εκτός της δοκιμής

Δείγματα εξετάστηκαν δύο φορές το καθένα σε 10 διαφορετικές σειρές. Οι συντελεστές απόκλισης που προέκυψαν ήταν μικρότεροι ή ίσοι με 10,8%.

Ακρίβεια

Δοκιμή αραιώσης

Δείγματα υψηλής συγκέντρωσης ακυλιώθηκαν και στη συνέχεια αραιώθηκαν διαδοχικά στο μηδενικό βαθμονομητές. Τα ποσοστά ανάκτησης κυμαίνονταν μεταξύ 82,3% και 119%.

Δοκιμή ανάκτησης

Γνωστές ποσότητες ACTH προστέθηκαν σε δείγματα χαμηλής συγκέντρωσης. Στη συνέχεια τα δείγματα ακυλιώθηκαν και εξετάστηκαν. Τα ποσοστά ανάκτησης κυμαίνονταν μεταξύ 97,2% και 116%.

Εύρος μέτρησης (από αναλυτική ευαισθησία έως τον υψηλότερο βαθμονομητή): 0,31 μέχρι κατά προσέγγιση 1.500 pg/mL.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Η μη τήρηση των οδηγιών που περιέχονται στο έντυπο μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τα αποτελέσματα.

Τα αποτελέσματα πρέπει να ερμηνευθούν λαμβάνοντας υπόψη τη συνολική κλινική παρουσίαση της ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων της κλινικής ιστορίας, των δεδομένων από συμπληρωματικές εξετάσεις και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Η ηπαρίνη προσδένεται στην ACTH και επομένως δεν πρέπει να χρησιμοποιηθεί. Τα δείγματα πρέπει επομένως να συλλεχθούν σε EDTA.

Για προσδιορισμούς που χρησιμοποιούν αντισώματα, υπάρχει πιθανότητα παρεμβολής από ετερόφιλα αντισώματα στο δείγμα του ασθενούς. Οι ασθενείς που ήρθαν σε συχνή επαφή με ζώα ή έκαναν ανοσοθεραπεία ή διαγνωστικές επεμβάσεις με τη βοήθεια ανοσοσφαιρινών ή τμήματα ανοσοσφαιρίνης πιθανόν να παραγάγουν αντισώματα, π.χ. HAMA, που παρεμβάλλουν στους ανοσοπροσδιορισμούς. Τα εν λόγω παρεμβάλλοντα αντισώματα πιθανόν να προκαλέσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Να αξιολογείτε προσεκτικά τα αποτελέσματα ασθενών που υποπτεύεστε ότι φέρουν αυτά τα αντισώματα.

IRMA ACTH

REF IM2030, B89463

IMMUNORADIOMETRYCZNA METODA DO OZNACZANIA IN VITRO ACTH W LUDZKIM OSOCZU

Do użytku diagnostycznego *in vitro*.

ZASADA

Do oznaczania hormonu kortykotropowego (ACTH) zastosowano metodę „kanapkową”, ale ACTH jest najpierw modyfikowane chemicznie poprzez succynylicację, w wyniku której powstaje suksynylo ACTH (sACTH, bursztynilo ACTH)) i ten związek ostatecznie bierze udział w reakcji immunologicznej.

ACTH jest wysoce niezmiennie u różnych gatunków i jednocześnie niestabilne. Z tych dwóch powodów jest szczególnie trudno immunizować zwierzęta ludzkim hormonem w celu wytworzenia przez nie przeciwciał, które będą miały wystarczająco wysokie powinowactwo, aby je zastosować w oznaczaniu immunoradiometrycznym. Chemiczna modyfikacja ludzkiego ACTH poprzez succynylicację pozwala na odróżnienie go od endogennego ACTH podczas immunizacji i podnosi jego stabilność. Ta specyficzna modyfikacja jest wymagana również w stosunku do próbek, ponieważ przeciwciała zestawu rozpoznają ją. Dzięki odczytnikom do succynylicacji zawartym w zestawie w prosty sposób osiąga się wysoce powtarzalną succynylicację. Co więcej, ta chemiczna modyfikacja stabilizuje ACTH podczas preparatyki.

W zestawie użyto trzy mysie monoklonalne niekompetycyjne przeciwciała skierowane przeciw trzem różnym epitopom sACTH. Najpierw zmodyfikowane próbki badane i kalibratory inkubowane są w probówkach pokrytych dwoma przeciwciałami monoklonalnymi. Po pierwszej inkubacji płynna zawartość probówek jest ostrożnie odciągana. Następnie do każdej próbki dodawany jest roztwór zawierający trzecie przeciwciało monoklonalne znakowane ¹²⁵J. Po drugiej inkubacji zawartość probówek jest odciągana, a próbki są dwukrotnie przepłukiwane. Następnie związana radioaktywność jest mierzona w liczniku gamma. Zawartość ACTH w danej próbce jest odczytywana z krzywej standardowej. Stężenie ACTH w próbce jest wprost proporcjonalne do jej radioaktywności.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Uwagi ogólne:

- Fiolki z kalibratorami i kontrolami nie powinny pozostawać otwarte przez czas dłuższy niż jest to konieczne aby uniknąć nadmiernego odparowania zawartości fiołki.
- Wszystkie odczynniki przed pipetowaniem należy doprowadzić do temperatury pokojowej.
- Nie należy mieszać odczynników z różnych serii produkcyjnych.
- Krzywa standardowa musi być wykonana podczas każdego oznaczania.
- Właściwe nastawienie wytrząsarki jest bardzo ważne dla powtarzalności wyników.
- Zalecane jest wykonywanie oznaczeń w duplikatach.
- Każda próbka może być użyta tylko raz.

Podstawowe zasady bezpieczeństwa podczas postępowania z promieniowaniem

Wejście w posiadanie, używanie, utylizacja i transfer materiałów radioaktywnych powinien być zgodny z prawem obowiązującym w danym kraju. Przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa przy stosowaniu materiałów radioaktywnych powinno zapewnić odpowiednią ochronę.

- Nie jeść, nie pić, nie palić wyrobów tytoniowych, nie aplikować kosmetyków w obecności materiałów radioaktywnych.
- Nie pipetować radioaktywnych roztworów przy użyciu ust.
- Unikać wszelkiego kontaktu z materiałami radioaktywnymi poprzez stosowanie rękawic i ubrań ochronnych.
- Wszystkie czynności przy użyciu materiałów radioaktywnych powinny być wykonywane w przeznaczonym do tego celu miejscu, znajdującym się w odpowiedniej odległości od korytarzy i innych pomieszczeń.

- Materiały radioaktywne powinny być przechowywane w zabezpieczonym pojemniku.
- Należy zapisać datę przyjęcia radioaktywnych produktów, a czas ich przechowywania powinien być zgodny z odpowiednim terminem.
- Sprzęt laboratoryjny i naczynia, które uległy kontaminacji powinny być oddzielone od pozostałych, aby nie spowodować kontaminacji krzyżowej różnymi radioizotopami
- W sytuacji zanieczyszczenia radioizotopami i/lub zgubieniu radioaktywnego materiału powinno być powzięte postępowanie zgodne z prawem obowiązującym w kraju użytkownika.
- Radioaktywne odpady powinny być przechowywane zgodnie z przepisami obowiązującymi w kraju użytkownika.

Azydek sodu


Niektóre odczynniki zawierają azydek sodu jako środek konserwujący. Azydek sodu wchodzi w reakcje z ołowiem, miedzią lub mosiądzem, tworząc wybuchowe azydki. W związku z tym odczynniki zawierające azydek sodu powinny być rozcieńczane dużą ilością wody przed wylaniem ich do kanalizacji.

Materiały pochodzące od człowieka

Materiały pochodzące od człowieka użyte w tym zestawie mają wynik negatywny po badaniach na obecność przeciwciał HIV1 i HIV2, przeciwciał przeciw HCV, powierzchniowego antygenu Hepatitis B (HBsAg). Mimo to powinny być traktowane jak materiał zakaźny. Nie ma testu dającego pełną gwarancję nieobecności wirusa. Należy obchodzić się z tym zestawem z zachowaniem wszelkich środków ostrożności.

Wszystkie osocza należy tak traktować jakby były materiałem do zakażenia hepatitis lub AIDS, a niszczenie odpadów powinno być przeprowadzone zgodnie z przepisami obowiązującymi w kraju użytkownika.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS


Wash Solution (20X)	NIEBEZPIECZEŃSTWO
	
H360	Może działać szkodliwie na płodność lub na dziecko w łonie matki.
P201	Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi środkami ostrożności.
P280	Stosować rękawice ochronne, odzież ochronną i ochronę oczu/ochronę twarzy.
P308+P313	W przypadku narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. Kwas borowy 0,1 - 0,3% Dziesięciowodny boran sodu 0,1 - 0,3%

Succinylation Reagent UWAGA



H302	Działa szkodliwie po połknięciu.
H319	Działa drażniąco na oczy.
H335	Może powodować podrażnienie dróg oddechowych.
P261	Unikać wdychania par.
P280	Stosować rękawice ochronne, odzież ochronną i ochronę oczu/ochronę twarzy.

Calibrators

P304+P340	W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: Wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić warunki do odpoczynku w pozycji umożliwiającej swobodne oddychanie.		P403+P233	Przechowywać w dobrze wentylowanym miejscu. Przechowywać pojemnik szczelnie zamknięty.
P312	W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUCIE/lekarzem.		P405	Przechowywać pod zamknięciem.
P337+P313	W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.	DMSO	P501	Zawartość/pojemnik usuwać zgodnie z przepisami miejscowymi/krajowymi. Dimetylosulfotlenek Bezwodnik sukcyńlowy Wodorotlenek potasu
P403+P233	Przechowywać w dobrze wentylowanym miejscu. Przechowywać pojemnik szczelnie zamknięty. Bezwodnik sukcyńlowy > 95%		UWAGA	
	UWAGA			
H315	Działa drażniąco na skórę.		H227	Płyn palny
H319	Działa drażniąco na oczy.		H315	Działa drażniąco na skórę.
H335	Może powodować podrażnienie dróg oddechowych.		H319	Działa drażniąco na oczy.
P261	Unikać wdychania par.		H335	Może powodować podrażnienie dróg oddechowych.
P271	Stosować wyłącznie na zewnątrz lub w dobrze wentylowanym pomieszczeniu.		P261	Unikać wdychania par.
P280	Stosować rękawice ochronne, odzież ochronną i ochronę oczu/ochronę twarzy.		P280	Stosować rękawice ochronne, odzież ochronną i ochronę oczu/ochronę twarzy.
P302+P352	W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ NA SKÓRĘ: Umyć dużą ilością wody z mydłem.		P304+P340	W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: Wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić warunki do odpoczynku w pozycji umożliwiającej swobodne oddychanie.
P304+P340	W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: Wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić warunki do odpoczynku w pozycji umożliwiającej swobodne oddychanie.		P312	W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUCIE/lekarzem.
P305+P351+P338	W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.		P337+P313	W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
P312	W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUCIE/lekarzem.		P403+P233	Przechowywać w dobrze wentylowanym miejscu. Przechowywać pojemnik szczelnie zamknięty. Dimetylosulfotlenek > 95%
P332+P313	W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.			
P337+P313	W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.			
P362+P364	Zdjąć zanieczyszczoną odzież i wyprać przed ponownym użyciem.			



Karta charakterystyki jest dostępna w witrynie techdocs.beckmancoulter.com

ZBIERANIE PRÓB, PRZYGOTOWYWANIE, ROZCIEŃCZANIE I PRZECHOWYWANIE

- Krew pobierać do silikonowanych szklanych lub polipropylenowych probówek zawierających EDTA. Nie używać heparyny jako antykoagulantu. Nie używać nie silikonowanych szklanych probówek, ponieważ wiąże ACTH.
- Oddzielić osocze jak najszybciej poprzez wirowanie w 2-8°C.
- Jeżeli oznaczanie nie zostanie od razu przeprowadzone, to próbki osocza muszą być przechowywane <-18°C, ponieważ ACTH jest bardzo niestabilne. Próbkę powinny być podzielone, aby uniknąć zamrażania i rozmrażania.

Stabilizacja ACTH poprzez succynyłację może być przeprowadzona niezwłocznie po odwirowaniu zgodnie z przepisem z paragrafu Procedura oznaczania. Próbkę po succynyłacji mogą być przechowywane przez 7 dni w 2-8°C. Zalecane jest, aby przez dłuższy czas przechowywać je w <-18°C. Nie jest konieczne rozdodowanie próbek z succynyłowanym ACTH, ponieważ jest ono względnie niewrażliwe na zamrażanie i rozmrażanie.

- Próbkę mającą stężenie wyższe niż najwyższy kalibrator, muszą być rozcieńczone kalibratorem zero, ale po succynylacji.

MATERIAŁY DOSTARCZONE

Wszystkie odczynniki zestawu są stabilne zgodnie z datą ich ważności umieszczoną na opakowaniu, pod warunkiem przechowywania ich w temperaturze 2-8°C. Daty ważności są wydrukowane tylko na etykietach fiolek z przedłużonym okresem skladowania składników przez producenta. Nie należy brać ich pod uwagę.

Warunki przechowywania odczynników po upływie czasu rekonstrukcji lub rozcieńczeniu są podane w akapicie Procedura.

Zestaw do oznaczania ACTH, 100 próbek (Kat. # IM2030)

Probówki pokryte przeciwciałami monoklonalnymi przeciw sACTH: 2 x 50 próbek (gotowy do użycia)

Znakowane ¹²⁵J przeciwciało monoklonalne przeciw sACTH: 1 fiołka, 11 mL (gotowy do użycia)

Fiołka zawiera 814 kBq, w dniu produkcji, znakowanego ¹²⁵J immunoglobulin w płynnej formie z białkami i azydem sodu (<0,1%) oraz z barwnikiem.

Kalibratory: 5 fiolek po 2 mL + 1 fiołka (4 mL) z kalibratorem „zero” (gotowy do użycia)

Kalibratory zawierają ludzką surowicę poddaną działaniu bezwodnika bursztynowego. One są bezpośrednio do użycia i nie muszą być dodatkowo chemicznie modyfikowane.

Fiolki z kalibratorami zawierają od 0 do około 1500 pg/mL syntetycznego sACTH w ludzkiej surowicy i azydek sodu (<0,1%). Właściwe stężenia są podane na etykietce znajdującej się na każdej fiołce. Kalibratory są wykalibrowane z użyciem międzynarodowego standardu NIBSC 74/555.

Surowica kontrolna: 2 fiołki (liofilizat)

Uwaga: ze względu na niestabilność cząsteczki ACTH w każdym zestawie są dwie takie same surowice kontrolne. Po odtworzeniu nie można zachować surowicy kontrolnej bez dodania bezwodnika bursztynowego, nawet poprzez zamrożenie. Zachowaj drugą fiołkę do następnej serii oznaczeń.

Fiolki zawierają syntetyczne ACTH liofilizowane w ludzkiej surowicy. Oczekiwany zakres stężeń podano w dodatku.

Roztwór alkilujący: 1 fiołka, 15 mL (gotowy do użycia)

Bufor zawiera azydek sodu (<0,1%).

Odczynnik succynylujący: jedna fiołka (proszek)

Fiołka zawiera 600 mg bezwodnika bursztynowego.

DMSO (Dimetylosulfotlenek): 1 fiołka, 3 mL (gotowy do użycia)

Roztwór DMSO z czerwieńią fenolową. Umożliwić DMSO równoważenie w temperaturze pokojowej do pełnego roztopienia. Delikatnie wymieszać przed użyciem.

Płyn do płukania (20x): 1 fiołka, 50 mL

Koncentrat musi być rozcieńczony przed użyciem.

Zestaw do oznaczania ACTH, 50 próbek (Kat. # B89463)

Probówki pokryte przeciwciałami monoklonalnymi przeciw sACTH: 1 x 50 próbek (gotowy do użycia)

Znakowane ¹²⁵J przeciwciało monoklonalne przeciw sACTH: 1 fiołka, 11 mL (gotowy do użycia)

Kalibratory: 5 fiolek po 2 mL + 1 fiołka (4 mL) z kalibratorem „zero” (gotowy do użycia)

Surowica kontrolna: 2 fiołki (liofilizat)

Roztwór alkilujący: 1 fiołka, 15 mL (gotowy do użycia)

Odczynnik succynylujący: jedna fiołka (proszek)

DMSO (Dimetylosulfotlenek): 1 fiołka, 3 mL (gotowy do użycia)

Płyn do płukania (20x): 1 fiołka, 50 mL

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZANE

Poza standardowym wyposażeniem laboratorium wymagane są następujące urządzenia:

- Probówki polipropylenowe
- Dokładna mikropipeta (300 µL; 500 µL).
- Półautomatyczna pipeta (50 µL, 100 µL, 250 µL, 2 mL).
- Mieszadło wirowe („vortex“).

PI-IM2030-B89463-04

- Pozioma lub orbitalna wyrząsarka.
- System odciągający.
- Licznik gamma do 125 jodu.

PROCEDURA

Przygotowanie odczynników

Wszystkie odczynniki należy doprowadzić do temperatury pokojowej.

Odtworzenie próby kontrolnej

Zawartość fiołki jest odtwarzana przez dodanie wody destylowanej, której objętość podana jest na etykietce fiołki. Następnie należy odczekać 10-20 minut (maks) i delikatnie zamieszać, aby uniknąć spienienia przed dozowaniem. Po odtworzeniu, nie można zachować surowicy kontrolnej bez dodania bezwodnika bursztynowego, nawet poprzez zamrożenie. Użyć drugą fiołkę w następnej serii oznaczeń.

Odtworzyć odczynnik do succynylacji

Zawartość fiołki jest rekonstruowana przy użyciu objętości DMSO wskazanej na etykietce. Dokładnie wymieszać przed użyciem i sprawdzić wzrokowo pełne rozpuszczenie bezwodnika bursztynowego. Po rekonstrukcji odczynnik jest stabilny w temperaturze 2-8°C do upływu daty ważności zestawu. Lekkie odbarwienie, niekiedy obserwowane w trakcie przechowywania, w żaden sposób nie wpływa na wydajność odczynnika succynylujący.

Przygotowanie roztworu do płukania

Przelej zawartość fiołki do 950 mL wody destylowanej i zamieszaj. Rozcieńczony roztwór może być przechowywany w 2-8°C zgodnie z datą ważności zestawu.

Procedura oznaczania

Succynylacja surowicy kontrolnej i próbek

<p>Uwaga: nie succynylować kalibratorów Do polipropylenowych próbek dodać kolejno:</p> <p>500 mL próbki lub surowicy kontrolnej 250 mL roztworu alkilującego 50 µL odczynnika succynylującego.</p> <p>Niezwłocznie zmieszać wirowo i inkubować 5 min. w 18-25°C.</p>

Uwaga 1: Podane objętości wystarczają na przeprowadzenie oznaczeń w duplikatach. Dla próbek nie oznaczanych w duplikatach, próbki, alkaliczny roztwór i odczynnik do succynylacji mogą być zredukowane do połowy.

Uwaga 2: Kolor wskaźnika w odczynniku do succynylacji musi być żółty (tumor yellow), jeżeli reakcja przebiega właściwie. Podczas źle przebiegającej reakcji wskaźnik utrzymuje kolor fioletowy.

1. Etap immunologiczny	2. Etap immunologiczny*	Zliczanie
Do pokrytych przeciwciałem próbek dodać:	Do każdej próbki dodać:	Przełukać próbki dwukrotnie 2 mL płynu do płukania.
300 µL kalibratorów, succynylowane próbki lub succynylowane surowice kontrolne.	100 µL znacznika	Zliczać związane cpm (B) i całkowite cpm (T) 1 min.
Inkubacja 1 godzinę w 18-25°C z wyrząsaniem (>280rpm).	Inkubować 2 godziny w 18-25°C z wyrząsaniem (>280 rpm).	
Odciągnąć zawartość każdej próbki dokładnie.	Odciągnąć zawartość każdej próbki dokładnie (z wyjątkiem 2 próbek „całkowita cpm”).	

*Dodać 100 µL znacznika do 2 dodatkowych próbek w celu otrzymania całkowitego cpm.

WYNIKI

Wyniki należy odczytać z krzywej standardowej. Krzywa standardowa służy do oznaczania stężenia ACTH w próbkach mierzonych w tym samym czasie co kalibratory.

Krzywa standardowa

Wyniki w dziale kontroli jakości obliczono przy użyciu krzywej *składanej* dopasowania z oznaczoną promieniotwórczością ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) na logarytmicznej osi pionowej i stężeniem analitu w kalibratorach na logarytmicznej osi poziomej (pg/mL).

Zastosowanie innych metod do opracowania danych może dać nieco inne wyniki.

Całkowita aktywność: 257 224 cpm				
Kalibratory	ACTH (pg/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	($cpm_{kal} - cpm_{kal0}$)
0	0	182	0,07	-
1	8,2	829	0,32	647
2	26,0	1847	0,72	1665
3	87,0	5505	2,14	5323
4	451	23 888	9,30	23 706
5	1322	57 455	22,34	57 273

(Przykładowe wartości do krzywej wzorcowej, nie do zastosowania)

Próbki

W przypadku każdej próbki należy zlokalizować wartość cpm lub B/T na osi pionowej i odczytać odpowiednie stężenie ACTH na osi poziomej.

Uwaga: Stężenie każdego kalibratora podane na etykiecie fiolki uwzględnia rozcieńczenie, które powstaje podczas etapu succynyacji próbek. Rozcieńczenie to nie powinno być brane pod uwagę podczas obliczania stężenia w próbkach (stężenie w próbce odczytać bezpośrednio z krzywej standardowej).

OCZEKIWANE WARTOŚCI

Sugeruje się, aby w każdym laboratorium ustalono własne wartości normalne. Poniższe wartości otrzymano tylko od osób zdrowych i są one jedynie wskazówką:

Numer	Średnia	Mediana	2,5 percentyl	97,5 percentyl
42	18,5 pg/mL	15 pg/mL	7 pg/mL	41 pg/mL

KONTROLA JAKOŚCI

Dobrze funkcjonujące laboratorium dla swej wiarygodności stosuje regularnie wewnętrzną kontrolę jakości otrzymanych wyników. Te próbki muszą być przygotowywane i oznaczane zgodnie z procedurą. Ich przydatność do oceny każdego zestawu będzie właściwa przy zastosowaniu odpowiedniej analizy statystycznej.

W przypadku uszkodzenia paczki lub jeżeli opracowanie otrzymanych wyników sprawia trudności proszę się kontaktować z miejscowym dystrybutorem lub pod adresem E-mail: imunochem@beckman.com

CHARAKTERYSTYKA TESTU

(Po więcej wiadomości zajrzyj do zestawu danych w "DODATKU")

Czułość

Analalityczna czułość: 0,31 pg/mL

Czułość funkcjonalna: 4,82 pg/mL

Specyficzność

Przeciwiata użyte w zestawie jest wysoce specyficzne w stosunku do ACTH. Otrzymano niezwykle niską reaktywność krzyżową w stosunku do kilku pokrewnych cząsteczek (ACTH 1-24; 1-10; 18-39; 11-24; α MSH i POMC) nawet w nieobecności (reakcje krzyżowe) lub w obecności (interferencje) ACTH.

Kontrola precyzji

Wewnątrz zestawu

Próbki z tej samej serii były oznaczane 25 razy. Współczynniki wariancji były poniżej lub równe wartości do 10,0%.

Między oznaczeniami

Próbki były oznaczane w duplikatach w 10 różnych seriach. Współczynniki wariancji były poniżej lub równały się wartości do 10,8%.

Kontrola dokładności

Test rozcieńczania

Próbki o wysokim stężeniu były seryjnie rozcieńczone kalibratorem zero. Procentowe odzyski otrzymano między 82,3% i 119%.

Test odzysku

Próbki o niskim stężeniu były dodawane do próbek o znanej zawartości ACTH. Procentowe odzyski otrzymano między 97,2% i 116%.

Zakres pomiarowy (od czułości analitycznej testu do stężenia najwyższego kalibratora): 0.31 do około 1500 pg/mL.

OGRANICZENIA

Niestosowanie się do instrukcji załączonej do zestawu może znacznie wpływać na wyniki.

Wyniki powinny być interpretowane w świetle całkowitego obrazu klinicznego pacjenta, włączając historię choroby, dane z innych testów i inne stosowne informacje.

Heparyna wiąże się z ACTH i nie może być użyta. Probki muszą być pobierane na EDTA.

W przypadku oznaczeń z wykorzystaniem przeciwiata istnieje możliwość zakłóceń spowodowanych przez obce przeciwiata w próbce pacjenta. Pacjenci, którzy byli regularnie wystawieni na kontakt ze zwierzętami lub byli poddawani immunoterapii lub zabiegom diagnostycznym z użyciem immunoglobulin lub fragmentów immunoglobulin, mogą wytworzyć przeciwiata (np. HAMA) zakłócające wyniki oznaczeń immunologicznych. Takie przeciwiata zakłócające mogą prowadzić do uzyskania błędnych wyników. Należy starannie przeanalizować wyniki u pacjentów z podejrzeniem obecności tych przeciwiata.

IRMA ACTH

REF IM2030, B89463

IN VITRO IMUNORADIOMETRICKÉ STANOVENÍ ACTH V LIDSKÉ PLAZMĚ

Pro diagnostické účely *in vitro*.

PRINCIP

Imunoradiometrické stanovení ACTH je stanovení typu "sandwich", při kterém je ACTH chemicky sukcinylováno na sykcinyl-ACTH (sACTH).

ACTH je vysoce konzervovaný u různých biologických druhů a je nestabilní. Z těchto dvou důvodů je zvláště obtížné imunizovat zvířata proti lidskému hormonu tak, aby produkovala protilátky s dostatečně vysokou afinitou pro použití v imunoradiometrickém stanovení. Chemická modifikace lidského ACTH sukcinylací umožňuje jeho odlišení od endogenního ACTH imunizovaných zvířat a zvyšuje též jeho stabilitu. Takto jsou získány monoklonální protilátky o vysoké afinitě k sukcinylovanému lidskému ACTH. Specifita protilátek použitých ve stanovení vyžaduje, aby byla stejná chemická modifikace uplatněna i v případě vzorků. Toho je dosaženo jednoduše a s vysokou reprodukovatelností pomocí succinylačního činidla dodávaného v soupravě. Chemická modifikace vzorků navíc stabilizuje ACTH a tak usnadňuje manipulaci se vzorky.

V soupravě jsou použity tři myší monoklonální protilátky proti třem různým epitopům molekul sACTH. Modifikované vzorky a kalibrátory se nejprve inkubují ve zkumavkách potažených dvěma monoklonálními protilátkami. Po první inkubaci se obsah zkumavek pečlivě odsaje a napipetuje se do nich třetí protilátka, značená ¹²⁵I. Po druhé inkubaci se obsah zkumavek odsaje a dvakrát promyje, aby se odstranila nenavázaná značená protilátka. Vázaná aktivita ¹²⁵I se poté měří na gama-čítači. Koncentrace ACTH ve vzorcích je přímo úměrná změřené radioaktivitě a získá se interpolací z kalibrační křivky.

VAROVÁNÍ A OPATŘENÍ

Obecné poznámky:

- Lahvičky s kalibrátory a kontrolními vzorky by měly být otevřené co nejkratší dobu, aby nedošlo k nežádoucímu odpaření roztoku.
- Nechte reagencie před pipetací vytemperovat na laboratorní teplotu.
- Nemíchejte substance ze souprav různých šarží.
- Pro každou novou sérii analýz je nutné provést novou kalibraci.
- Správné nastavení třepačky je velmi důležité pro reprodukovatelnost stanovení.
- Doporučuje se provádět stanovení v duplikátech.
- Každá zkumavka může být použita jen jednou.

Základní pravidla radiacní bezpečnosti

Tento radioaktivní materiál mohou přijímat, skladovat a používat pouze pracoviště, která splňují platné zákonné předpisy upravující podmínky pro bezpečné nakládání s otevřenými radionuklidovými zářiči. Při práci s radioaktivními látkami dodržujte následující pravidla:

- Všechny radioaktivní látky musí být skladovány v původním balení a jen na místech k tomu určených.
- Příjem a spotřeba radioaktivních látek musí být evidována.
- Práce s radioaktivními látkami musí být prováděny pouze ve vyhrazených prostorách.
- Pipetování nesmí být prováděno ústy.
- V laboratořích určených k práci s radioaktivními látkami je zakázáno jíst, pít, kouřit, líčit se a pod.
- Obalový materiál, který není kontaminován, je možno odložit do běžného odpadu pouze po odstranění varovných nápisů a značek.
- Povrch pracovních stolů, který by mohl být kontaminován, je třeba pravidelně kontrolovat. Všechno laboratorní sklo, které bylo použito pro práci s radioaktivními látkami, musí být řádně dekontaminováno a proměřeno před dalším použitím.
- V případě kontaminace nebo úniku radioaktivního materiálu postupujte podle stanovených předpisů.
- Radioaktivní odpad likvidujte v souladu s platnými zákony a předpisy.

Azid sodný




Některé substance jsou konzervovány azidem sodným. Azid sodný může reagovat s olovem, medí nebo mosazí za vzniku příslušných výbušných azidů. Proto likvidované reagencie splachujte velkým množstvím vody.

Materiál lidského původu

Materiál lidského původu obsažený v reagentech této soupravy mel negativní test na přítomnost protilátek proti viru HIV 1 a 2, viru hepatitidy C a proti povrchovému antigenu hepatitidy B (HBsAg). Žádná z dostupných metod nemůže dát sto procentní jistotu neinfekčnosti. Je tedy nutné pracovat s temito reagenty jako s potenciálně infekčními.

Se všemi vzorky plazmy musí být manipulováno jako s potenciálně infekčními (hepatitis, nebo AIDS). Veškerý vzniklý odpad je třeba likvidovat podle platných předpisů.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Wash Solution (20X)	NEBEZPEČÍ	
		
H360		Může poškodit reprodukční schopnost nebo plod v těle matky.
P201		Před použitím si obstarejte speciální instrukce.
P280		Používejte ochranné rukavice, ochranný oděv a ochranné brýle/obličejový štít.
P308+P313		PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. Kyselina boritá 0,1 - 0,3% Boritan sodný, dekahydrát 0,1 - 0,3%
Succinylation Reagent	VAROVÁNÍ	
		
H302		Zdraví škodlivý při požití.
H319		Způsobuje vážné podráždění očí.
H335		Může způsobit podráždění dýchacích cest.
P261		Zamezte vdechování par.
P280		Používejte ochranné rukavice, ochranný oděv a ochranné brýle/obličejový štít.
P304+P340		PŘI VDECHNUTÍ: Převraťte osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v klidu v poloze usnadňující dýchání.
P312		Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.
P337+P313		Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
P403+P233		Skladujte na dobře větraném místě. Uchovávejte obal těsně uzavřený. Sukcinický Anhydrid > 95%
Calibrators	VAROVÁNÍ	
		
H315		Dráždí kůži.
H319		Způsobuje vážné podráždění očí.
H335		Může způsobit podráždění dýchacích cest.
P261		Zamezte vdechování par.
P271		Používejte pouze venku nebo v dobře větraných prostorách.

P280	Používejte ochranné rukavice, ochranný oděv a ochranné brýle/obličejový štít.
P302+P352	PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody a mýdla.
P304+P340	PŘI VDECHNUTÍ: Přepравte osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v klidu v poloze usnadňující dýchání.
P305+P351+P338	PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, pokud jsou nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.
P312	Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.
P332+P313	Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
P337+P313	Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
P362+P364	Kontaminované části oděvu svlékněte a před použitím vyperte.
P403+P233	Skladujte na dobře větraném místě. Uchovávejte obal těsně uzavřený.
P405	Skladujte uzamčené.
P501	Obsah/obal odstraňte v souladu s místními/národními předpisy. Dimethylsulfoxid Sukcinický Anhydrid Hydroxid draselný

DMSO

VAROVÁNÍ



H227	Hořlavá kapalina.
H315	Dráždí kůži.
H319	Způsobuje vážné podráždění očí.
H335	Může způsobit podráždění dýchacích cest.
P261	Zamezte vdechování par.
P280	Používejte ochranné rukavice, ochranný oděv a ochranné brýle/obličejový štít.
P304+P340	PŘI VDECHNUTÍ: Přepравte osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v klidu v poloze usnadňující dýchání.
P312	Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.
P337+P313	Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
P403+P233	Skladujte na dobře větraném místě. Uchovávejte obal těsně uzavřený. Dimethylsulfoxid > 95%



Bezpečnostní list je k dispozici na adrese
techdocs.beckmancoulter.com

SBĚR A PŘÍPRAVA, SKLADOVÁNÍ A ŘEDĚNÍ VZORKŮ

- Odebírejte vzorky krve do skleněných zkumavek potažených silikonem nebo do plastových zkumavek obsahujících EDTA. Nepoužívejte jako antikoagulační prostředek heparin. Nepoužívejte skleněné zkumavky bez silikonu; adsorbují ACTH.
- Co nejdříve centrifugací při 2-8 °C oddělte od buněk frakci plazmy.
- ACTH je velice nestabilní a pokud není stanovení provedeno okamžitě, vzorky plazmy musí být skladovány zmrazené (při <-18 °C), nejlépe v alikvotech. Je třeba se vyvarovat opakovaného zmrazování vzorků. Vzhledem k tomu, že se ACTH stabilizuje sukcinylací, vzorky plazmy mohou být též sukcinylvány bezprostředně po centrifugaci podle paragrafu Schéma postupu. Sukcinylované vzorky pak mohou být skladovány 7 dní při 2-8 °C. Pro delší skladování doporučujeme teplotu pod -18 °C. Protože sukcinylovaný ACTH snáší opakované zmrazování a rozmrazování, není nezbytné sukcinylované vzorky před zamražením rozdělit na alikvoty.
- Pokud obsahují vzorky vyšší koncentraci než je koncentrace nejvyššího kalibrátoru, je třeba je sukcinylvat a poté zředit nulovým kalibrátorem.

POSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Všechny reagenty v soupravě jsou stabilní do data expirace, uvedeného na štítku krabice, jestliže jsou skladovány při 2-8 °C. Data expirací uvedená na štítcích jednotlivých složek se vztahují pouze k dlouhodobému skladování u výrobce před kompletací souprav. Neberte na ně tedy, prosím, ohled.

Skladovací podmínky pro zředěné nebo rekonstituované reagenty jsou uvedeny v odstavci Postup.

Souprava pro stanovení ACTH, 100 zkumavek (Kat. č. IM2030)

Zkumavky potažené monoklonální protilátkou proti sACTH: 2 x 50 zkumavek (připraveny k použití)

Monoklonální protilátka proti sACTH, značená ¹²⁵I: 1 lahvička 11 ml (připravena k použití).

Lahvička obsahuje ke dni výroby 814 kBq ¹²⁵I značeného imunoglobulinu v roztoku s proteiny, azidem sodným (<0,1 %) a barvivem.

Kalibrátory: 5 lahviček (po 2 ml) a 1 lahvička nulového kalibrátoru 4 ml (připravené k použití).

Lahvičky obsahují sukcinylovaný ACTH v lidském séru, jsou tedy již rovnou připraveny k použití a nesmí se dále chemicky modifikovat.

Lahvičky obsahují syntetický sACTH v lidském séru s azidem sodným (<0,1 %), koncentrační rozmezí je 0 do přibližně 1 500 pg/ml. Přesné hodnoty koncentrací jsou uvedeny na štítcích lahviček. Kalibrátory jsou kalibrovány na mezinárodní standard NIBSC 74/555.

Kontrolní vzorky: 2 lahvičky (lyofilizované)

Upozornění: Vzhledem k nestabilitě molekuly ACTH jsou v soupravě dodávány dvě lahvičky stejného kontrolního vzorku. Po rekonstituci kontrolní sérum, neošetřené sukcinylanhydridem, dále neskladujte (ani zmrazené). Pro další sérii stanovení použijte druhou lahvičku.

Lahvičky obsahují syntetický ACTH lyofilizovaný v lidském séru. Koncentrační rozmezí očekávaných hodnot jsou uvedena v příloze návodu.

Alkalický roztok: 1 lahvička 15 ml (připraven k použití)

Tlumivý roztok obsahuje azid sodný (<0,1 %).

Sukcinylační reagentie: jedna lahvička (prášek)

Lahvička obsahuje 600 mg sukcinanhydridu.

DMSO (dimethylsulfoxid): 1 lahvička 3 ml (připraven k použití)

Roztok DMSO s fenolovou červení. Nechte DMSO temperovat při pokojové teplotě, dokud se zcela nerozpustí. Před použitím jemně promíchejte.

Promývací roztok (20x): 1 lahvička 50 ml

Koncentrovaný roztok musí být před použitím zředěn.

Souprava pro stanovení ACTH, 50 zkumavek (Kat. č. B89463)

Zkumavky potažené monoklonální protilátkou proti sACTH: 1 x 50 zkumavek (připraveny k použití)

Monoklonální protilátka proti sACTH, značená ¹²⁵I: 1 lahvička 11 ml (připravena k použití).

Kalibrátory: 5 lahviček (po 2 ml) a 1 lahvička nulového kalibrátoru 4 ml (připravené k použití).

Kontrolní vzorky: 2 lahvičky (lyofilizované)

Alkalický roztok: 1 lahvička 15 ml (připraven k použití)

Sukcinylační reagentie: jedna lahvička (prášek)

DMSO (dimethylsulfoxid): 1 lahvička 3 ml (připraven k použití)

Promývací roztok (20x): 1 lahvička 50 ml

VYŽADOVANÉ, ALE NEPOSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Kromě obvyklého laboratorního zařízení je pro analýzu potřebné následující vybavení:

- polypropylenové zkumavky.
- přesné mikropipety (300 µl; 500 µl).
- poloautomatické pipety (50 µl; 100 µl, 250 µl, 2 ml).
- vibrační míchadlo
- horizontální nebo orbitální třepačka
- vývěva
- gama-čítač kalibrován na 125I

POSTUP

Příprava reagentií

Vytemperujte všechny reagentie na laboratorní teplotu.

Příprava kontrolního vzorku

Obsah jedné z lahviček se rozpustí v destilované vodě, její objem je uveden na štítku lahvičky. Po přidání vody nechejte kontrolní vzorky volně rozpouštět 10 - 20 minut (max) a potom lehce bez napěnění promíchejte. Po rekonstituci nesukcinylovaný kontrolní vzorek dále neskladujte (ani zmražený). Pro další sérii stanovení použijte druhou lahvičku.

Rekonstituce sukcinylačního činidla

Obsah lahvičky se rekonstituuje objemem DMSO uvedeným na štítku. Před použitím důkladně promíchejte a vizuálně zkontrolujte, že se sukcinahydrid úplně rozpustil. Po rekonstituci je reagentie stabilní při teplotě 2–8 °C až do data expirace soupravy. Mírné zhnědnutí, ke kterému někdy dochází při skladování, nemá žádný vliv na funkci sukcinylační reagentie.

Příprava promývacího roztoku

Přilijte obsah lahvičky do 950 ml destilované vody a promíchejte. Zředěný roztok může být skladován při 2-8 °C do data expirace soupravy.

Schéma postupu

Sukcinylace kontrolního vzorku a neznámých vzorků

Upozornění: Nesukcinylujte kalibrátory	
Do polypropylenových zkumavek přidejte postupně v následujícím pořadí:	
500 µl neznámého nebo kontrolního vzorku	
250 µl alkalického roztoku	
50 µl sukcinylačního činidla	
Okamžitě zamíchejte na vibračním míchadle	
Inkubujte 5 minut při 18-25 °C	

Poznámka 1: Objemy uvedené výše jsou dostatečné pro stanovení v duplikátech. Pokud není stanovení provedeno v duplikátech, objemy vzorků,

alkalického roztoku a sukcinylačního činidla mohou být redukovány na polovinu.

Poznámka 2: Barevný indikátor sukcinylačního činidla musí zežloutnout, což indikuje, že reakce proběhla normálně. V případě abnormální reakce přetrvává fialová barva.

1. imunologický krok	2. imunologický krok	Měření
Do potažených zkumavek postupně přidejte:	Do každé zkumavky přidejte:	2 x promyjte 2 ml promývacího roztoku a odsajte.
300 µl kalibrátoru, sukcinylačního kontrolního nebo sukcinylačního neznámého vzorku	100 µl radioindikátoru	Měřte po dobu 1 min. vázanou aktivitu (B) a celkovou aktivitu (T).
Inkubujte 1 hod. při 18-25 °C, za stálého třepání (>280 kmitů/min.).	Inkubujte 2 hodiny při 18-25 °C za stálého třepání (>280 kmitů/min.).	
Odsajte pečlivě obsah zkumavek	Odsajte pečlivě obsah zkumavek (s výjimkou 2 zkumavek pro stanovení celkové aktivity T).	

*Připravte si odděleně dvě zkumavky a napipetujte do nich po 100 µl radioindikátoru pro určení celkové aktivity (T).

VÝSLEDKY

Výsledky se získají interpolací z kalibrační křivky, která slouží pouze pro analýzu těch vzorků, které byly inkubovány společně s kalibrátory.

Kalibrační křivka

Výsledky v oddělení kontroly kvality jsou vypočteny za použití křivky *spline* s parametrem určené radioaktivity ($cpm_{cal} - cpm_{cal.0}$) na svislé ose log a koncentrací analytu kalibrátorů na vodorovné ose log (pg/ml).

Jiné metody zpracování mohou dávat mírně rozdílné výsledky.

Celková aktivita: 257 224 cpm				
Kalibrátory	ACTH (pg/ml)	cpm (n=3)	B/T (%)	cpm _{kal.} - cpm _{kal.0}
0	0	182	0,07	-
1	8,2	829	0,32	647
2	26,0	1 847	0,72	1 665
3	87,0	5 505	2,14	5 323
4	451	23 888	9,30	23 706
5	1 322	57 455	22,34	57 273

(Příklad typického stanovení, nepoužívejte pro výpočet.)

Vzorky

Pro každý vzorek vyhledejte hodnotu cpm nebo B/T na svislé ose a odečtěte odpovídající koncentraci ACTH na vodorovné ose.

Poznámka: Koncentrace uvedené na lahvičkách kalibrátorů již odrážejí zředění vzorku v důsledku sukcinylačního kroku. Proto se při počítání koncentrace ve vzorku toto ředění neuvažuje (koncentrace se odečítají přímo z kalibrační křivky).

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní rozmezí referenčních hodnot. Následující hodnoty byly získány u zdravých jedinců a jsou zde uvedeny pro informaci.

Počet	Průměr	Medián	2,5 percentil	97,5 percentil
42	18,5 pg/ml	15 pg/ml	7 pg/ml	41 pg/ml

KONTROLA KVALITY

Správná laboratorní praxe předpokládá řádné a pravidelné používání kontrolních vzorků, aby mohla být zajištěna kontrola kvality stanovených výsledků. Kontrolní vzorky musí být stanoveny naprosto stejným způsobem jako neznámé vzorky a k vyhodnocení výsledků se mají použít vhodné statistické metody.

V případě závažného poškození obalu, nebo jestliže získané výsledky nejsou ve shodě s analytickými parametry stanovení, kontaktujte prosím naše odborné pracovníky. E-mail: imunochem@beckman.com

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

(Podrobnosti jsou uvedeny v příloze "APPENDIX")

Citlivost

Analytická citlivost: 0,31 pg/ml

Funkční citlivost: 4,82 pg/ml

Specifita

Protilátky použité v soupravě jsou vysoce specifické pro ACTH. Nalezené zkřížené reakce s několika příbuznými molekulami (ACTH 1-24; 1-10; 18-39; 11-24; α MSH a POMC) byly extrémně nízké, a to jak bez přítomnosti ACTH (zkřížená reaktivita), tak za přítomnosti ACTH (interference).

Přesnost

Intra-assay

Vzorky byly analyzovány 25x v jednom stanovení. Nalezené hodnoty variačních koeficientů nepřesáhly 10,0 %.

Inter-assay

Vzorky byly stanoveny v duplikátech v 10 různých stanoveních. Nalezené hodnoty variačních koeficientů nepřesáhly 10,8 %.

Správnost

Test ředění

Vzorky s vysokou koncentrací ACTH byly sukcinylvány a pak postupně ředěny nulovým kalibrátorem. Procento recovery se pohybovalo mezi 82,3 % a 119 %.

Test „recovery“

Různá množství ACTH byla přidávána ke vzorkům s nízkou koncentrací ACTH. Vzorky pak byly sukcinylvány a analyzovány. Procento recovery se pohybovalo mezi 97,2 % a 116 %.

Rozsah stanovení (od analytické citlivosti do nejvyššího kalibrátoru): 0,31 do přibližně 1 500 pg/ml.

OMEZENÍ

Nedodržení instrukcí uvedených v tomto návodu může vést k nesprávným výsledkům.

Výsledky stanovení by měly být interpretovány ve světle celkového klinického obrazu pacienta včetně anamnézy, údajů z dalších testů a jiných vhodných informací.

Heparin se váže na ACTH a nesmí být proto použit. Vzorky by proto měly být odebírány do EDTA.

U stanovení využívajících protilátky existuje možnost interference heterofilních protilátek přítomných v patientském vzorku. Pacienti, kteří byli pravidelně ve styku se zvířaty nebo podstoupili imunoterapii nebo diagnostické procedury využívající imunoglobuliny nebo fragmenty imunoglobulinů, mohou produkovat protilátky jako například HAMA (Human Anti-Mouse Antibodies - lidské protilátky proti myším proteinům), které interferují při imunologických stanoveních. Takové interferující protilátky mohou vést k chybným výsledkům. Výsledky pacientů, u nichž existuje podezření na přítomnost takovýchto protilátek, posuzujte s opatrností.

IRMA ACTH

REF IM2030, B89463

IN VITRO IMUNORÁDIOMETRICKÉ STANOVENIE ACTH V ĽUDSKEJ PLAZME

Na *in vitro* diagnostické použitie.

PRINCÍP

Imunorádiometrické stanovenie ACTH je stanovenie typu "sandwich", pri ktorom sa ACTH chemicky sukcinyluje na sukcin-⁴¹ACTH (sACTH).

ACTH je dlhodobo uchovávaný u rôznych biologických druhov a je nestabilný. Z týchto dvoch dôvodov je zvlášť obtiažne imunizovať zvieratá proti ľudskému hormónu tak, aby produkovali protilátky s dostatočne vysokou afinitou pre použitie v imunorádiometrickom stanovení. Chemická modifikácia ľudského ACTH sukcinyláciou umožňuje jeho odlišenie od endogenného ACTH imunizovaných zvierat a zvyšuje tiež jeho stabilitu. Takto sa získajú monoklonálne protilátky s vysokou afinitou k sukcinylovanému ľudskému ACTH. Špecifita protilátok použitých v stanovení si vyžaduje, aby sa rovnaká chemická modifikácia použila aj u vzoriek. Toto sa dosiahne jednoducho a s vysokou reprodukovateľnosťou pomocou sukcinylačného činidla, ktoré je dodávané v súprave. Chemická modifikácia vzoriek navyše stabilizuje ACTH a tak uľahčuje manipuláciu so vzorkami.

V súprave sú použité tri myšacie monoklonálne protilátky proti trom rôznym epitopom molekuly sACTH. Modifikované vzorky a kalibrátory sa najprv inkubujú v skúmavkách potiahnutých dvoma monoklonálnymi protilátkami. Po prvej inkubácii sa obsah skúmaviek opatrne odsaje a napipetuje sa do nich tretia protilátka označená ¹²⁵I. Po druhej inkubácii sa obsah skúmaviek odsaje a dvakrát premyje, aby sa odstránila nenaviazaná označená protilátka. Viazaná aktivita ¹²⁵I sa potom meria gama-meračom. Koncentrácia ACTH vo vzorkách je priamo úmerná nameranej rádioaktivity a získa sa interpoláciou z kalibračnej krivky.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

Obecné poznámky:

- Fľaštičky s kalibrátormi a kontrolnými vzorkami môžu byť otvorené čo najkratšiu dobu, aby nedošlo k nežiaducemu odparení roztoku.
- Nechajte reagencie pred pipetovaním vytemperovať na laboratórnu teplotu.
- Nemiešajte substancie zo súprav rôznych šarží.
- Pre každú novú sériu analýz treba urobiť novú kalibráciu.
- Správne nastavenie trepačky je veľmi dôležité pre reprodukovateľnosť stanovení.
- Doporučuje sa robiť stanovenia v duplikátoch.
- Skúmavky sú iba na jedno použitie.

Základné pravidlá radiačnej bezpečnosti

Tento rádioaktívny materiál môžu prijímať, skladovať a používať iba pracovníci, ktorí spĺňajú platné zákonné predpisy upravujúce podmienky pre bezpečné nakladanie s otvorenými rádionuklidovými žiaričmi. Pri práci s rádioaktívnymi látkami dodržujte nasledujúce pravidlá:

- Všetky rádioaktívne látky sa musia skladovať v pôvodnom balení a iba na miestach k tomu určených.
- Nesmie sa pipetovať ústami.
- Príjem a spotreba rádioaktívnych látok musia byť evidované.
- Práce s rádioaktívnymi látkami sa musia robiť iba vo vyhradených priestoroch.
- V laboratóriách určených na prácu s rádioaktívnymi látkami je zakázané jesť, piť, fajčiť, líčiť sa a pod.
- Obalový materiál, ktorý nie je kontaminovaný, možno odložiť do bežného odpadu až po odstránení výstražných nápisov a značiek.
- Povrch pracovných stolov, ktorý by mohol byť kontaminovaný, treba pravidelne kontrolovať.
- V prípade kontaminácie alebo úniku rádioaktívneho materiálu postupujte podľa stanovených predpisov.
- Rádioaktívny odpad likvidujte v súlade s platnými zákonmi a predpismi.

Azid sodný




Niektoré substancie sú konzervované azidom sodným. Azid sodný môže reagovať s olovom, meďou alebo mosadzou za vzniku príslušných výbušných azidov. Preto likvidované reagencie splachujte veľkým množstvom vody.


Materiál ľudského pôvodu

Materiál ľudského pôvodu nachádzajúci sa v reagentoch tejto súpravy mal negatívny test na prítomnosť protilátok proti vírusu HIV 1 a 2, vírusu hepatitídy C a proti povrchovému antigénu hepatitídy B (HBsAg). Žiadna z dostupných metód nedáva stopercentnú istotu neinfekčnosti. Je teda potrebné pracovať s týmito reagentami ako s potenciálne infekčnými.

So všetkými vzorkami plazmy sa musí manipulovať ako s potenciálne infekčnými (hepatitis alebo AIDS). Všetok vzniknutý odpad treba likvidovať podľa platných predpisov.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Wash Solution (20X)	NEBEZPEČENSTVO
	
H360	Môže poškodiť plodnosť alebo nenarodené dieťa.
P201	Pred použitím sa oboznámte s osobitnými pokynmi.
P280	Noste ochranné rukavice, ochranný odev a ochranné okuliare/ochranu tváre.
P308+P313	Po expozícii alebo podozrení z nej: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. Kyselina boritá 0,1 - 0,3% Dekahydrát boritanu sodného 0,1 - 0,3%
Succinylation Reagent	POZOR
	
H302	Škodlivý po požití.
H319	Spôsobuje vážne podráždenie očí.
H335	Môže spôsobiť podráždenie dýchacích ciest.
P261	Zabráňte vdychovaniu pár.
P280	Noste ochranné rukavice, ochranný odev a ochranné okuliare/ochranu tváre.
P304+P340	PRI VDÝCHNUTÍ: Presuňte postihnutého na čerstvý vzduch a nechajte ho oddychovať v polohe, ktorá mu umožní pohodlné dýchanie.
P312	Pri zdravotných problémoch volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára/...
P337+P313	Ak podráždenie očí pretrváva: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.
P403+P233	Uchovávajte na dobre vetranom mieste. Nádobu uchovávajte tesne uzavretú. Anhydrid sukcinátu > 95%
Calibrators	POZOR
	
H315	Dráždi kožu.
H319	Spôsobuje vážne podráždenie očí.
H335	Môže spôsobiť podráždenie dýchacích ciest.

P261 P271	Zabráňte vdychovaniu pár. Používajte iba na voľnom priestranstve alebo v dobre vetranom priestore.	P403+P233	Uchovávajte na dobre vetranom mieste. Nádobu uchovávajte tesne uzavretú. Dimetyl sulfoxid > 95%
P280	Noste ochranné rukavice, ochranný odev a ochranné okuliare/ochranu tváre.		
P302+P352	PRI KONTAKTE S POKOŽKOU: Umyte veľkým množstvom vody a mydla.	 SDS	Bezpečnostný list je k dispozícii na stránkach techdocs.beckmancoulter.com
P304+P340	PRI VDÝCHNUTÍ: Presuňte postihnutého na čerstvý vzduch a nechajte ho odychovať v polohe, ktorá mu umožní pohodlné dýchanie.		
P305+P351+P338	PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.		
P312	Pri zdravotných problémoch volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára/...		
P332+P313	Ak sa objaví podráždenie pokožky, vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.		
P337+P313	Ak podráždenie očí pretrváva: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.		
P362+P364	Všetky kontaminované časti odevu vyzlečte a pred použitím vyperte.		
P403+P233	Uchovávajte na dobre vetranom mieste. Nádobu uchovávajte tesne uzavretú.		
P405 P501	Uchovávajte uzamknuté. Zneškodnite obsah/nádobu v súlade s miestnymi/národnými predpismi. Dimetyl sulfoxid Anhydrid sukcinátu Hydroxid draselný		

ZBER A PRÍPRAVA, SKLADOVANIE A RIEDENIE VZORIEK

- Odoberajte vzorky krvi do sklenených skúmaviek potiahnutých silikónom alebo do plastových skúmaviek obsahujúcich EDTA. Nepoužívajte ako antikoagulačný prostriedok heparín. Nepoužívajte sklenené skúmavky bez silikónu, adsorbujú ACTH.
- Čo najskôr oddeľte od buniek frakciu plazmy a to centrifugáciou pri 2-8 °C.
- ACTH je veľmi nestabilný a pokiaľ sa stanovenie neurobí okamžite, vzorky plazmy sa musia skladovať zmrazené (pri <-18 °C), najlepšie v alikvótoch. Treba sa vyvarovať opakovanému zmrazovaniu vzoriek. Vzhľadom na to, že ACTH sa stabilizuje sukcinyláciou, vzorky plazmy sa môžu tiež sukcinylovať bezprostredne po centrifugácii podľa paragrafu Postup stanovenia. Sukcinylované vzorky sa potom môžu skladovať 7 dní pri 2-8 °C. Pri dlhšom skladovaní doporučujeme teplotu pod -18 °C. Pretože sukcinylovaný ACTH znáša opakované zmrazovanie a rozmrazovanie, nie je nevyhnutné rozdeliť sukcinylované vzorky pred zmrazením na alikvóty.
- Pokiaľ majú vzorky vyššiu koncentráciu ACTH ako je koncentrácia najvyššieho kalibrátora, treba ich sukcinylovať a potom zriediť nulovým kalibrátorom.

POSKYTOVANÝ MATERIÁL

Všetky reagenty v súprave sú stabilné do dátumu expirácie, uvedeného na štítku krabice, ak sú skladované pri 2-8 °C. Dátumy expirácií uvedené na štítkoch jednotlivých zložiek sa vzťahujú iba na dlhodobé skladovanie u výrobcu pred kompletizáciou súprav. Neberte na ne, prosím, ohľad.

Skladovacie podmienky pre činidlá po rekonštitúcii alebo zriedení sú uvedené v odseku Postup.

Súprava na stanovenie ACTH, 100 skúmaviek (Kat. č. IM2030)

Skúmavky potiahnuté monoklonálnou protilátkou proti sACTH: 2 x 50 skúmaviek; pripravené na použitie.

Monoklonálna protilátka proti sACTH označená ¹²⁵I: 1 fľaštička (11 ml); pripravená na použitie.

Fľaštička obsahuje ku dňu výroby 814 kBq ¹²⁵I označeného imunoglobulínu v roztoku s proteínmi, azidom sodným (<0,1 %) a farbivom.

Kalibrátory: 5 fľaštičiek (po 2 ml) a 1 fľaštička nulového kalibrátora (4 ml); pripravené na použitie.

Fľaštičky obsahujú sukcinylovaný ACTH v ľudskom sére, sú už teda pripravené na použitie a nesmú sa ďalej chemicky modifikovať.

Fľaštičky obsahujú syntetický sACTH v ľudskom sére s azidom sodným (<0,1 %), koncentračný rozsah je od 0 do približne 1500 pg/ml. Presné hodnoty koncentrácií sú uvedené na štítkoch fľaštičiek. Kalibrátory sú kalibrované na medzinárodný štandard NIBSC 74/555.

Kontrolné vzorky: 2 fľaštičky; lyofilizované.

Upozornenie: Vzhľadom na nestabilitu molekuly ACTH sa v súprave dodávajú dve fľaštičky rovnakej kontrolnej vzorky. Po rekonštitúcii kontrolné sérum, neošetrené sukcinanhydridom, ďalej neskladujte (ani zmrazené). Pre ďalšiu sériu stanovení použite druhú fľaštičku.

Fľaštičky obsahujú syntetický ACTH lyofilizovaný v ľudskom sére. Koncentračné rozsahy očakávaných hodnôt sú uvedené v príloze Návodu.

Alkalický roztok: 1 fľaštička (15 ml); pripravená na použitie.

Timivý roztok obsahuje azid sodný (<0,1 %).

Sukcinylačné činidlo: jedna fľaštička (prášok)

Fľaštička obsahuje 600 mg anhydridu kyseliny jantárovej.

DMSO (dimethylsulfoxid): 1 fľaštička (3 ml); pripravená na použitie.

Roztok DMSO s fenolovou červeňou. Nechajte DMSO vytemperovať na izbovú teplotu až do úplného roztopenia. Pred použitím jemne premiešajte.

DMSO

POZOR



H227	Horľavá kvapalina.
H315	Dráždi kožu.
H319	Spôsobuje vážne podráždenie očí.
H335	Môže spôsobiť podráždenie dýchacích ciest.
P261 P280	Zabráňte vdychovaniu pár. Noste ochranné rukavice, ochranný odev a ochranné okuliare/ochranu tváre.
P304+P340	PRI VDÝCHNUTÍ: Presuňte postihnutého na čerstvý vzduch a nechajte ho odychovať v polohe, ktorá mu umožní pohodlné dýchanie.
P312	Pri zdravotných problémoch volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára/...
P337+P313	Ak podráždenie očí pretrváva: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

Premývaci roztok (20x): 1 fľaštička 50 ml

Koncentrovany roztok sa musí pred použitím zriediť.

Súprava na stanovenie ACTH, 50 skúmaviek (Kat. č. B89463)

Skúmavky potiahnuté monoklonálnou protilátkou proti sACTH: 1 x 50 skúmaviek; pripravené na použitie.

Monoklonálna protilátka proti sACTH označená ¹²⁵I: 1 fľaštička (11 ml); pripravená na použitie.

Kalibrátory: 5 fľaštičiek (po 2 ml) a 1 fľaštička nulového kalibrátora (4 ml); pripravené na použitie.

Kontrolné vzorky: 2 fľaštičky; lyofilizované.

Alkalický roztok: 1 fľaštička (15 ml); pripravená na použitie.

Sukcinylačné činidlo: jedna fľaštička (prášok)

DMSO (dimethylsulfoxid): 1 fľaštička (3 ml); pripravená na použitie.

Premývaci roztok (20x): 1 fľaštička 50 ml

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ SA NEPOSKYTUJE

Okrem obvyklého laboratórneho zariadenia je pre analýzu potrebné nasledujúce vybavenie:

- polypropylénové skúmavky.
- presné mikropipety (300 µl; 500 µl).
- poloautomatické pipety (50 µl; 100 µl, 250 µl, 2 ml).
- vibračné miešadlo
- horizontálna alebo orbitálna trepačka
- výveva
- gama-merač kalibrovaný na 125I

POSTUP

Príprava reagensí

Vytemperujte všetky reagensy na laboratórnu teplotu.

Príprava kontrolnej vzorky

Obsah jednej z fľaštičiek sa rozpustí v destilovanej vode, ktorej objem je uvedený na štítku fľaštičky. Po pridaní vody nechajte kontrolné vzorky voľne sa rozpúšťať 10-20 minút (max) a potom ich ľahko, bez napnenia, premiešajte. Po rekonštitúcii nesukcinylovanú kontrolnú vzorku ďalej neskladujte, ani zmrazenú. Pre ďalšiu sériu stanovení použite druhú fľaštičku.

Rekonštitúcia sukcinyláčného činidla

Obsah fľaštičky sa rekonštituuje v objeme DMSO, ktorý je uvedený na štítku. Pred použitím dôkladne premiešajte a pohľadom skontrolujte, či sa anhydrid kyseliny jantárovej úplne rozpustil. Činidlo je po rekonštitúcii stabilné pri teplote 2 – 8 °C do dátumu expirácie súpravy. Mierné zafarbenie, ktoré možno niekedy spozorovať pri skladovaní, nemá žiadny vplyv na funkčnosť sukcinyláčného činidla.

Príprava premývacieho roztoku

Prilejte obsah fľaštičky do 950 ml destilovanej vody a premiešajte. Zriedený roztok sa môže skladovať pri 2-8 °C do dátumu expirácie súpravy.

Postup stanovenia

Sukcinylácia kontrolnej vzorky a neznámych vzoriek

Upozornenie: Nesukcinylujte kalibrátory	
Do polypropylénových skúmaviek pridajte postupne v nasledujúcom poradí:	
500 µl neznámej alebo kontrolnej vzorky	
250 µl alkalického roztoku	
50 µl sukcinyláčného činidla.	
Okamžite zamiešajte na vibračnom miešadle.	
Inkubujte 5 minút pri 18-25 °C.	

Poznámka 1: Objemy uvedené vyššie sú dostatočné pre stanovenia v duplikátoch. Ak sa stanovenie nerobí v duplikátoch, objemy vzoriek,

alkalického roztoku a sukcinyláčného činidla sa môžu zredukovať na polovicu.

Poznámka 2: Farebný indikátor sukcinyláčného činidla musí zožltnúť, čo indikuje, že reakcia prebehla normálne. V prípade abnormálnej reakcie pretrváva fialová farba.

1. imunologický krok	2. imunologický krok	Meranie
Do potiahnutých skúmaviek postupne pridajte:	Do každej skúmavky pridajte:	2 x premyte 2 ml premývacieho roztoku a odsajte.
300 µl kalibrátora, sukcinylovanej kontrolnej alebo sukcinylovanej neznámej vzorky.	100 µl rádioindikátora.	Merajte 1 minútu viazanú aktivitu (B) a celkovú aktivitu (T)
Inkubujte 1 hod. pri 18-25 °C za stáleho trepania (>280 kmitov/min.).	Inkubujte 2 hodiny pri 18-25 °C za stáleho trepania (>280 kmitov/min.).	
Odsajte pozorne obsah skúmaviek.	Odsajte pozorne obsah skúmaviek (s výnimkou 2 skúmaviek na stanovenie celkovej aktivity T).	

*Pripravte si oddelene dve skúmavky a napipetujte do nich po 100 µl rádioindikátora na určenie celkovej aktivity (T).

VÝSLEDKY

Výsledky sa získajú interpoláciou z kalibračnej krivky, ktorá slúži iba pre analýzu tých vzoriek, ktoré sa inkubovali spolu s kalibrátormi.

Kalibračná krivka

Výsledky uvedené v časti o kontrole kvality boli vypočítané preloženie krivky metódou *spline* v grafe s hodnotami stanovenej rádioaktivity ($cpm_{cal} - cpm_{cal.0}$) na logaritmickej vertikálnej osi a koncentraciami analytov v kalibrátoroch na logaritmickej horizontálnej osi (pg/ml).

Iné metódy spracovania môžu dávať mierne rozdielne výsledky.

Celková aktivita: 257 224 cpm				
Kalibrátory	ACTH (pg/ml)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{kal.} - cpm_{kal.0}$
0	0	182	0,07	-
1	8,2	829	0,32	647
2	26,0	1847	0,72	1665
3	87,0	5505	2,14	5323
4	451	23 888	9,30	23 706
5	1322	57 455	22,34	57 273

(Príklad typického stanovenia, nepoužívajte pre výpočet.)

Vzorky

Pri každej vzorke vyhľadajte na vertikálnej osi hodnotu cpm alebo B/T a odčítajte príslušnú koncentráciu ACTH na horizontálnej osi.

Poznámka: Koncentrácie uvedené na fľaštičkách kalibrátorov odpovedajú zriadeniu vzoriek po sukcinylácii. Preto sa pri výpočte koncentrácie vo vzorke toto riadenie nezohľadňuje – koncentrácie sa odčítajú priamo z kalibračnej krivky.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

Každé laboratórium by si malo stanoviť vlastný rozsah referenčných hodnôt. Uvádzané hodnoty sa získali od zdravých jedincov a sú iba informačné.

Počet	Priemer	Medián	2,5 percentil	97,5 percentil
42	18,5 pg/ml	15 pg/ml	7 pg/ml	41 pg/ml

KONTROLA KVALITY

Správna laboratórna prax predpokladá riadne a pravidelné používanie kontrolných vzoriek, aby mohla byť zaistená kontrola kvality stanovených výsledkov. Kontrolné vzorky sa musia stanoviť úplne rovnakým spôsobom ako neznáme vzorky a na vyhodnotenie výsledkov sa majú použiť vhodné štatistické metódy.

V prípade závažného poškodenia obalu, alebo ak získané výsledky nie sú v zhode s analytickými parametrami stanovenia, kontaktujte prosím našich odborných pracovníkov. E-mail: imunochem@beckman.com

VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

(podrobnosti sú uvedené v prílohe "APPENDIX")

Citlivosť

Analytická citlivosť: 0,31 pg/ml

Funkčná citlivosť: 4,82 pg/ml

Špecifita

Protilátky použité v súprave sú vysoko špecifické pre ACTH. Nájdené skřížené reakcie s niektorými príbuznými molekulami (ACTH 1-24; 1-10; 18-39; 11-24; α MSH a POMC) boli extrémne nízke a to ako bez prítomnosti ACTH (skřížená reaktivita), tak aj za prítomnosti ACTH (interferencia).

Presnosť

Intra-assay

Vzorky boli analyzované 25x v jednom stanovení. Nájdené hodnoty variačných koeficientov nepresiahli 10,0 %.

Inter-assay

Vzorky boli stanovené v duplikátoch v 10 rôznych stanoveniach. Nájdené hodnoty variačných koeficientov nepresiahli 10,8 %.

Správnosť

Test riedenia

Vzorky s vysokou koncentráciou ACTH sa sukcinulovali a potom postupne riedili nulovým kalibrátorom. Percento recovery sa pohybovalo medzi 82,3 % a 119 %.

Test „recovery“

Rôzne množstvá ACTH sa pridávali k vzorkám s nízkou koncentráciou ACTH. Vzorky sa potom sukcinulovali a analyzovali. Percento recovery sa pohybovalo medzi 97,2 % a 116 %.

Rozsah merania (od analytickej citlivosti po najvyšší kalibrátor): 0,31 do približne 1500 pg/ml.

OBMEDZENIA

Nedodržanie inštrukcií uvedených v tomto návode môže viesť k nesprávnym výsledkom.

Výsledky stanovení by mali byť interpretované v súlade s celkovým klinickým obrazom pacienta vrátane anamnézy, údajov z ďalších testov a iných vhodných informácií.

Heparín sa viaže na ACTH a preto sa nesmie použiť. Vzorky by sa preto mali odoberať do EDTA.

Pri stanoveniach využívajúcich protilátky existuje možnosť interferencie heterofilných protilátok prítomných v patientskej vzorke. Pacienti, ktorí pravidelne prichádzali do kontaktu so zvieratami alebo užívali imunoterapiu, prípadne podstúpili diagnostické procedúry využívajúce imunoglobulíny alebo fragmenty imunoglobulínov, môžu produkovať protilátky, napríklad ľudské protilátky proti myším proteínom (HAMA), ktoré interferujú pri imunologických stanoveniach. Také interferujúce protilátky môžu mať za následok chybné výsledky. Výsledky pacientov, u ktorých existuje podozrenie na prítomnosť takýchto protilátok, posudzujte s opatnosťou.

IRMA ACTH

REF IM2030, B89463

사람 혈장 내 ACTH의 체외 측정용 면역방사측정법 체의 진단용.

원리

부신피질 자극 호르몬(ACTH)의 면역방사측정법은 먼저 ACTH가 속시닐화
를 통해 화학적으로 변경되어 속시닐 ACTH(sACTH)를 도출하는 "샌드위치"
유형 분석입니다.

ACTH는 다양한 생물 종에서 높은 보존율을 나타내며 불안정합니다. 이러
한 두 가지 이유로 인해, 면역방사측정법에 사용하기 위해 친화력이 충분히
높은 항체를 생산하기 위해 동물이 사람 호르몬에 대한 면역력을 갖게 하는
것은 특히 어렵습니다. 이러한 속시닐화로 인한 사람 ACTH의 화학적 변경
을 통해 면역력을 갖는 동물의 내인 ACTH를 구분할 수 있으며 안정성이 항
상됩니다. 따라서 속시닐화된 사람 ACTH에 대한 친화력이 높은 단일 클론
항체를 얻게 됩니다. 분석에 활용되는 항체의 특이도를 위해서는 동일한 화
학적 변경을 검체에 적용해야 합니다. 키트에 제공된 속시닐화 시약을 사용
하면 간단하게 그리고 높은 재현율로 이를 수행할 수 있습니다. 또한 검체를
화학적으로 변경하면 ACTH가 안정화되므로 검체 취급이 용이해집니다.

sACTH 분자의 3개의 서로 다른 항원결정인자를 향하고 서로 경합하지 않는
3개의 단일 클론 항체를 키트에서 사용합니다. 단일 클론 항체로 코팅된 튜
브에서 변경된 검체와 교정물질을 먼저 배양합니다. 첫 번째 배양이 끝나면
튜브 내용물을 조심스럽게 흡입합니다. 그런 다음 세 번째 단일 클론 항체를
함유한 ¹²⁵I 표지 용액을 각 튜브에 첨가합니다. 두 번째 배양이 끝나면 튜브
내용물을 흡입한 후 두 번 세척하고 경계 방사능을 측정합니다. 표준 곡선
에서 보간을 통해 미지 값을 확인합니다. 검체에 있는 ACTH의 농도는 방사성
과 정비례합니다.

경고 및 주의 사항 일반적인 주의

- 표준액과 정도관리용액은 증발을 막기 위해 가능한 짧게 개봉해야 한
다.
- pipeting하기 전에 모든 시약을 실온에 가져온다.
- 상이한 lot의 kit들을 서로 섞지 않는다.
- 각 측정마다 새로운 표준 곡선이 필요하다.
- shaker의 정확한 세팅은 재현성 실험에 매우 중요하다.
- 2번의 반복 측정이 권장된다.
- 각 튜브는 반드시 한번씩만 사용해야 한다.

방사선 안전에 대한 기본 규칙

방사성 물질의 구입, 소유와 양도는 사용되는 국가의 규제에 따른다. 기본
규칙에 대한 엄수는 충분한 보호를 제공한다.

- 방사성 물질이 있는 장소에서는 취식, 음주, 흡연과 화장을 하지 않도
록 한다.
- 방사성 용액을 입으로 pipetting 하지 않도록 한다.
- 장갑과 실험복을 착용하여 방사성 물질에 대한 모든 접촉을 피하여라.
- 방사성 물질의 모든 조작은 복도와 다른 바쁜 장소에서 적절한 장소,
거리에서 수행되어야 한다.
- 방사성 물질은 지정된 장소 내에서 제공되는 용기에 보관되어야만 한
다.
- 모든 방사성 제품의 수량과 저장에 대한 기록은 최신정보로 갱신하여
야 한다.
- 오염이 되기 쉬운 실험실 장비와 유리제품은 다른 종류의 방사성 동
위원소와의 교차오염의 예방을 위해 분리 보관되어야 한다.
- 모든 경우의 방사성 오염이나 방사성 물질의 분실은 규정된 절차에
의해 해결되어야만 한다
- 방사성 폐기물은 사용되는 국가에서 규정한 규제에 따라 처리되어야
만 한다.

아지드화 나트륨

어떤 시약은 방부제로서 아지드화 나트륨을 포함하고 있다. 아지드화 나트
륨은 납, 구리, 황동과 폭발성 오오드화 금속의 형태를 띠는 반응을 일으킬
수 있다. 시약은 많은 양의 물로 씻어내어 배관계통을 통해 처분하라.

사람 기원 물질

본 kit 의 어떤 시약들은 사람으로부터 기인한 것이고 HIV 1, HIV 2와 B형, C
형 간염에 대해 음성으로 나타났다. 하지만 전염성을 가진 것처럼 취급하여
라. 어떠한 시험방법도 전염성 물질이 없다고 완전히 확신시킬 수는 없다.
이러한 시약들은 잠재적으로 감염성을 가진 것처럼 취급하라.

모든 혈액 검체는 간염이나 AIDS를 전염시키는 것으로 취급하고 폐기물은
국가 규정에 따라 폐기한다.

GHS 유해물질 등급

Wash Solution (20X) 위험



H360

생식능력이나 태아에 손상을 일으킬 수 있음.

P201

사용 전 취급 설명서를 확보하십시오.

P280

보호용 장갑, 보호용 의류 및 눈/안면 보호장구를 착용하십시오.

P308+P313

노출되었거나 노출이 우려되는 경우: 의학적인 조언/주의를 받으십시오.

농산 0.1 - 0.3%

농산 나트륨 10수화물 0.1 - 0.3%

Succinylation Reagent 경고



H302

삼킬 경우 해롭습니다.

H319

눈에 심한 자극을 일으킴.

H335

호흡기 자극을 일으킬 수 있음.

P261

증기를 흡입하지 않도록 주의하십시오.

P280

보호용 장갑, 보호용 의류 및 눈/안면 보호장구를 착용하십시오.

P304+P340

만약 흡입했다면: 신선한 공기가 있는 곳으로 옮기고 숨쉬기 편한 자세로 휴식을 취하도록 하십시오.

P312

불편함을 느끼면 독성물질 관리센터나 의사에게 연락하십시오.

P337+P313

눈에 대한 자극감이 지속되는 경우: 의료진의 진찰을 받으십시오.

P403+P233

환기가 잘 되는 곳에 보관하십시오. 용기를 단단히 밀폐하십시오.

석신산무수물 > 95%

Calibrators 경고



H315

피부에 자극을 일으킴.

H319

눈에 심한 자극을 일으킴.

H335

호흡기 자극을 일으킬 수 있음.

P261

증기를 흡입하지 않도록 주의하십시오.

P271

옥외 또는 환기가 잘 되는 곳에서만 취급하십시오.

P280

보호용 장갑, 보호용 의류 및 눈/안면 보호장구를 착용하십시오.

P302+P352

피부에 묻은 경우: 다량의 비누 및 물로 씻어내십시오.

P304+P340

만약 흡입했다면: 신선한 공기가 있는 곳으로 옮기고 숨쉬기 편한 자세로 휴식을 취하도록 하십시오.

P305+P351+P338 눈에 들어간 경우: 수 분 동안 물로 조심스럽게 씻어내십시오. 콘택트렌즈가 있는 경우, 제거하기 쉽다면 제거하십시오. 계속해서 행구십시오.

P312 불편함을 느끼면 독성물질 관리센터나 의사에게 연락하십시오.

P332+P313 피부 자극이 발생한 경우: 의학적 조언/관리를 받으십시오.

P337+P313 눈에 대한 자극감이 지속되는 경우: 의료진의 진찰을 받으십시오.

P362+P364 오염된 의복을 벗고 사용 전에 세탁하십시오.

P403+P233 환기가 잘 되는 곳에 보관하십시오. 용기를 단단히 밀폐하십시오.

P405 밀봉하여 저장하십시오.

P501 지역/국가 규정에 따라 내용물/용기를 폐기하십시오
디메틸 술폰
석신산무수물
수산화칼륨

ACTH는 반복적인 냉동과 해동에 상대적으로 둔감하므로 즉시닐화 된 검체를 분액할 필요는 없습니다.

- 만약 검체의 농도가 최고 교정물질의 농도보다 높으면 즉시닐화한 후 재로 교정물질로 희석해야 합니다.

제공되는 품목

Kit내의 모든 시약은 2~8°C에 저장하면 Kit label에 표기된 유효기간까지 안정하다. 구성 바이알에 표기된 온도와 유효기간은 제조사를 위한 표기이니, 참고하지 마십시오.

복원 또는 희석 후 시약에 대한 보관 조건은 절차 단락에 명시되어 있습니다.

ACTH 측정 키트, 100개 튜브(카탈로그 번호: IM2030)

항-sACTH 단일 클론 항체-코팅 튜브: 2 x 50개 튜브(즉시 사용 가능)

¹²⁵I 표지 단일 클론 항-sACTH 항체: 11 mL 바이알 1개(즉시 사용 가능)

바이알에는 제조일 기준으로 814 kBq의 ¹²⁵I 표지 면역글로불린이 단백질, 소듐아자이드(<0.1%) 및 염료를 함유한 액체에 포함되어 있습니다.

교정물질: 2 mL 바이알 5개 + 4 mL의 “제로” 교정물질 1개(즉시 사용 가능)

교정물질에는 속신산무수물로 처리된 사람 혈청이 함유되어 있습니다. 따라서 즉시 사용 가능하며 화학적으로 추가 변경해서는 안 됩니다.

교정물질 바이알에는 0 ~ 약 1,500 pg/mL의 합성 sACTH가 사람 혈청과 소듐아자이드(<0.1%)에 포함되어 있습니다. 정확한 농도는 각 바이알 라벨에 표시되어 있습니다. 교정물질은 국제 표준 NIBSC 74/555에 따라 교정되었습니다.

정도관리물질 혈청: 바이알 2개(동결 건조)

주의: ACTH 분자의 불안정성으로 인해 각 키트에 동일한 정도관리물질 혈청이 2개 바이알씩 제공됩니다. 재조성이 끝난 후 속신산무수물로 처리하지 않은 정도관리물질 혈청은 냉동된 상태로도 보존하지 마십시오. 다른 시리즈에는 두 번째 바이알을 사용하지 않습니다.

바이알에는 동결 건조된 합성 ACTH가 사람 혈청에 포함되어 있습니다. 기대 값이 부록에 표기된 농도 범위에 해당합니다.

알카리 용액: 15 mL 바이알 1개(즉시 사용 가능)

완충액에는 소듐아자이드(<0.1%)가 함유되어 있습니다.

즉시닐화 시약: 1개 바이알(분말)

바이알에는 600 mg의 속신산무수물이 함유되어 있습니다.

디메틸 술폰(DMSO): 3 mL 바이알 1개(즉시 사용 가능)

페놀 레드 DMSO 용액. DMSO가 완전히 용융될 때까지 실온에 두십시오. 사용하기 전에 부드럽게 혼합해 주십시오.

세척액(20배): 50mL 1개

농축되어 있는 용액은 사용하기 전에 희석해야 한다.

ACTH 측정 키트, 50개 튜브(카탈로그 번호: B89463)

항-sACTH 단일 클론 항체-코팅 튜브: 1 x 50개 튜브(즉시 사용 가능)

¹²⁵I 표지 단일 클론 항-sACTH 항체: 11 mL 바이알 1개(즉시 사용 가능)

교정물질: 2 mL 바이알 5개 + 4 mL의 “제로” 교정물질 1개(즉시 사용 가능)

정도관리물질 혈청: 바이알 2개(동결 건조)

알카리 용액: 15 mL 바이알 1개(즉시 사용 가능)

즉시닐화 시약: 1개 바이알(분말)

디메틸 술폰(DMSO): 3 mL 바이알 1개(즉시 사용 가능)

세척액(20배): 50mL 1개

필요하지만 제공되지 않는 품목

표준적인 실험실 기기에 부가하여 아래의 항목들이 요구된다.

- 폴리프로필렌 튜브.
- 정밀 마이크로피펫(300 µL, 500 µL).
- 반자동 피펫(50 µL, 100 µL, 250 µL, 2 mL).
- Vortex형 믹서
- 수평 궤도형 shaker
- 흡입용 system
- I-125측정을 위한 gamma counter

절차

시약의 준비

모든 시약들이 실온에 이르게 한다.

DMSO

경고



H227 가연성 액체

H315 피부에 자극을 일으킴.

H319 눈에 심한 자극을 일으킴.

H335 호흡기 자극을 일으킬 수 있음.

P261 증기를 흡입하지 않도록 주의하십시오.

P280 보호용 장갑, 보호용 의류 및 눈/안면 보호장구를 착용하십시오.

P304+P340 만약 흡입했다면: 신선한 공기가 있는 곳으로 옮기고 숨쉬기 편한 자세로 휴식을 취하도록 하십시오.

P312 불편함을 느끼면 독성물질 관리센터나 의사에게 연락하십시오.

P337+P313 눈에 대한 자극감이 지속되는 경우: 의료진의 진찰을 받으십시오.

P403+P233 환기가 잘 되는 곳에 보관하십시오. 용기를 단단히 밀폐하십시오.
디메틸 술폰 > 95%

SDS

안전보건자료는 techdocs.beckmancoulter.com에서 확인할 수 있습니다

표본 채집, 처리, 보관 및 희석

- EDTA가 포함된 실리콘 처리된 유리 또는 플라스틱 튜브에 검체 혈액 투입. 헤파린을 항응고제로 사용하지 마십시오. 실리콘 처리되지 않은 유리 튜브는 사용하지 마십시오. ACTH를 흡수합니다.
- 2~8°C에서 원심분리하여 최대한 빨리 혈장을 분리합니다.
- ACTH는 매우 불안정합니다. 분석을 즉시 수행하지 않는 경우에는 -18°C보다 낮은 온도에서 혈장 검체를 보관해야 합니다. 냉동과 해동의 반복을 피하기 위해 검체를 소분해야 합니다.

즉시닐화를 통한 ACTH의 안정화 과정에서, 혈장 검체 또한 검사 절차 단락 규정을 따른 원심분리 직후에 즉시닐화될 수 있습니다. 즉시닐화된 검체는 2~8°C에서 7일간 보관할 수 있습니다. 장기간 보관 시에는 -18°C보다 낮은 온도에서 보관하는 것이 좋습니다. 즉시닐화된

정도관리용액의 재구성

두 바이알 중 하나의 내용물을 라벨에 표시된 양의 증류수로 재조성합니다. 재조성이 끝난 후 10~20분(최대)간 기다렸다가 부드럽게 섞어 거품 형성을 방지합니다. 재조성이 끝난 후 속신산무수물로 처리하지 않은 정도관리물질 혈청은 냉동된 상태로도 보존하지 마십시오. 다른 시리즈에는 두 번째 바이알을 사용하지 않습니다.

속시닐화 시약의 재조성

바이알 내용물을 라벨에 표시된 양의 DMSO로 재조성합니다. 사용하기 전에 완전히 섞고 속신산무수물이 완전히 용해되었는지 육안으로 점검합니다. 재조성된 시약은 키트의 사용기한까지 2~8°C에서 안정적입니다. 보관 중에 약간 그을림이 발견되더라도 속시닐화 시약의 성능에 전혀 영향을 주지 않습니다.

세척액 준비

Vial의 내용물을 증류수 950 mL에 붓고 균질화시킵니다. 희석용액은 2~8°C에서 kit의 유효기간까지 보관할 수 있다.

측정 순서

정도관리물질 혈청과 검체의 속시닐화

<p>주의: 교정물질을 속시닐화하지 마십시오</p> <p>폴리프로필렌 튜브에 다음 순서대로 차례로 첨가합니다</p> <p>500 µL의 검체 또는 정도관리물질 혈청 250 µL의 알카리 용액 50 µL의 속시닐화 시약</p> <p>즉시 교반합니다 18~25°C에서 5분간 배양합니다</p>
--

비고 1: 위에 표시된 양은 반복 분석에 충분합니다. 비반복 분석의 검체의 경우, 검체, 알카리 용액 및 속시닐화 시약의 양이 절반으로 줄어든 수 있습니다.

비고 2: 속시닐화 시약의 색상 표시가 노란색으로 변하며 정상 반응이 발생했음을 나타내야 합니다. 비정상 반응은 지속적인 자주색으로 나타냅니다.

면역 단계1	면역 단계2	계수
항체-코팅된 튜브에 다음을 첨가하십시오:	각 튜브에 다음을 첨가하십시오:	2mL의 세척액으로 2번 세척한다.
300 µL의 교정물질 또는 속시닐화된 검체 또는 속시닐화된 정도관리물질 혈청	트레이서 100µL	결합 CPM(B)와 총 CPM(T)를 1분간 계수한다.
280rpm 이상으로 흔들며 실온(18-25°C)에서 1시간 동안 incubation한다.	>280rpm으로 흔들며 18-25°C에서 2시간 동안 incubation한다.	
각 튜브의 내용물을 조심스럽게 흡입합니다	각 튜브의 내용물을 조심스럽게 흡입합니다(«total cpm» 튜브 2개는 제외)	

*총 cpm을 얻기 위한 2개의 시험관에 tracer 100µL를 첨가한다.

결과

표준 곡선에서 보간을 통해 결과를 얻습니다. 이 곡선은 교정물질과 동시에 측정되는 검체의 ACTH 농도를 확인하는 데 사용됩니다.

표준곡선

정도관리 부서의 결과는 대수 수직 축에 결정된 방사능($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$)이 있고 대수 수평 축에 교정물질의 분석물질 농도(pg/mL)가 있는 *스플라인*/곡선 맞춤을 사용하여 산출되었습니다.

다른 데이터의 공제 방법은 다른 결과값을 보여줄 수 있다.

총 활동: 257,224 cpm				
표준용액	ACTH(pg/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{cal} - cpm_{cal0}$
0	0	182	0.07	-
1	8.2	829	0.32	647
2	26.0	1,847	0.72	1,665
3	87.0	5,505	2.14	5,323
4	451	23,888	9.30	23,706
5	1,322	57,455	22.34	57,273

(표준 곡선의 예에서는 이 계산을 사용하지)

검체

각 검체별로 세로 축에서 cpm 또는 B/T 값을 찾은 다음 가로 축에서 해당하는 ACTH 농도를 읽습니다.

참고: 각 교정물질 바이알에 표시된 농도는 속시닐화 단계로 인해 검체 희석을 고려한 것입니다. 검체 농도 계산 시 이러한 희석을 무시해야 합니다(표준 곡선에서 직접 확인).

기대값

개별 실험실마다 개별적인 정상값을 결정할 것을 권장한다. 건강한 사람들로 부터 얻어진 아래의 값들은 단지 지침일 뿐이다.

수치	평균	중간값	2.5번째 백분위수	97.5번째 백분위수
42	18.5 pg/mL	15 pg/mL	7 pg/mL	41 pg/mL

정도관리

좋은 실험실습은 control 검체가 결과값의 질을 향상시켜주는데 이용되는 것을 내포한다. 검체들은 측정 검체와 같은 방법으로 처리되어야 하며 적절한 통계방법에 의해서 분석되어진 결과값이 권장된다.

만약 포장에 이상이 있거나 결과값에 문제가 있으면, 공급업체나 다음의 메일로 연락주시기 바랍니다. imunochem@beckman.com

성능 특성

(더 자세한 사항은 "APPENDIX"를 참고하세요.)

민감도

분석 민감도: 0.31 pg/mL

기능 민감도: 4.82 pg/mL

특이도

면역분석법에 사용된 항체는 ACTH에 대해 매우 고유한 특이도를 갖습니다. ACTH가 없거나(교차 반응) 있는 상태에서(간섭) 여러 관련 분자(ACTH 1-24, 1-10, 18-39, 11-24, αMSH 및 POMC)에 대한 극히 낮은 수준의 교차 반응을 얻었습니다.

정밀성

측정내

같은 시리즈에서 검체를 25회 분석했습니다. 변동계수는 10.0% 이하인 것으로 나타났습니다.

측정간

10개의 서로 다른 시리즈로 반복해서 검체를 분석했습니다. 변동계수는 10.8% 이하인 것으로 나타났습니다.

정확성

회색 검사

고농도 혈청 검체를 속시닐화한 후 제로 교정물질로 계대 회색했습니다. 얻은 회수율 범위는 82.3% ~ 119%입니다.

회수율 검사

저농도 검체에 알려진 양의 ACTH를 섞었습니다. 그런 다음 검체를 속시닐화한 후 분석했습니다. 얻은 회수율 범위는 97.2% ~ 116%입니다.

측정 범위(분석 민감도에서 최고 교정물질까지): 0.31 ~ 약 1,500 pg/mL.

한계

이 사용설명서를 준수하지 아니하면 결과에 크게 영향을 미칠 것이다.

결과는 환자의 임상학적 가족력과 추가되는 실험이나 적절한 정보 등 모든 임상학적 자료를 통해 해석해야 한다.

헤파린은 ACTH와 결합하므로 사용하지 말아야 합니다. 따라서 EDTA에 검체를 수집해야 합니다.

본 검사에 사용되는 항체는 환자 검체의 헤테로필릭 항체의 간섭을 받을 수 있다. 정기적으로 동물에 노출되거나 면역치료 또는 항체를 생산할 수 있는 면역글로불린(예: HAMMA)을 이용하는 진단 검사를 받은 환자는 면역검사

에 간섭을 받을 수 있다. 이런 항체들은 결과의 이상을 초래할 수 있다. 이런 항체를 가진 환자들의 검사는 주의를 요한다.

IRMA ACTH

REF IM2030, B89463

INSAN PLAZMASINDA ACTH'İN İN VİTRO TESPİTİ İÇİN IMMUNORADIOMETRİK BİR TESTTİR In vitro diagnostik kullanım içindir.

PRENSİP

Kortikotropin hormonunun (ACTH) immunoradyometrik testi, ACTH'ın öncelikle suksinilasyon yoluyla kimyasal olarak değiştirildiği, suksinil ACTH (sACTH) ürününün ölçüldüğü "sandwich" tipi bir testtir.

ACTH, farklı biyolojik numunelerde yüksek oranda korunmuştur ve çok değişkendir. Bu iki sebepten dolayı, immunoradyometrik testte kullanılmak üzere hayvanları insan hormonuna karşı aşılama ve yeterli affiniteye sahip antikor elde etmek özellikle zordur. İnsan ACTH'ının asilasyon yoluyla kimyasal olarak değiştirilmesi, aşılama hayvanının endojenöz ACTH'tan ayrılmasına olanak sağlar ve stabilitesini artırır. Asile edilmiş insan ACTH'ı için yüksek affiniteli monoklonal antikorlar bu şekilde elde edilir. Deneyde kullanılan antikorların spesifitesi, numunelerde aynı kimyasal değişikliğin uygulanmasını gerektirir. Bu, basit bir şekilde ve yüksek tekrarlanabilirlikle, kitle verilen asilasyon reaktifi ile sağlanabilir. Bunun yanında, numunenin kimyasal olarak değiştirilmesi ACTH'ı stabilize eder ve numune işlemini kolaylaştırır.

Kit içinde, sACTH molekülünün üç farklı epitoplarına karşı yönelmiş ve birbiriyle yarışmayan, üç fare monoklonal antikorları kullanılmıştır. Modifiye edilmiş numuneler ve kalibratörler öncelikle iki monoklonal antikorla kaplanmış tüplerin içinde inkübe edilirler. İlk inkübasyondan sonra tüp içeriği dikkatli bir şekilde aspire edilir. I-¹²⁵ etiketlenmiş üçüncü bir antikorlu içeren bir solüsyon tüplere eklenir. İkinci inkübasyondan sonra, tüp içeriği aspire edilir ve iki kez yıkandıktan sonra bağlanmış radyoaktivite ölçülür. Bilinmeyen değerler, standard eğrisinden interpolasyon yoluyla elde edilir. Numunedeki ACTH konsantrasyonu radyoaktivite ile doğru orantılıdır.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

Genel yorumlar:

- Kalibratör ve kontrol şişeleri, buharlaşmayı önlemek amacıyla mümkün olduğunca kısa süreli açık kalmalıdır.
- Pipetlemeden önce bütün reaktifleri oda ısısına getiriniz.
- Farklı lotlardan kit reaktiflerini karıştırmayınız.
- Her deney için bir standard eğrisi dahil edilmelidir.
- Deneyin aynı şekilde tekrarı için doğru shaker düzeni çok önemlidir.
- Testi duplike olarak çalışmak önerilmektedir.
- Her tüp sadece bir kez kullanılmalıdır.

Radyasyon güvenliği için temel kurallar

Satınalma, sahip olma, kullanma ve radyoaktif materyalin taşınması, kullanılan ülkenin yönetmeliğine tabidir. Radyasyon güvenliğinin temel kurallarına bağlı kalınması, yeterli korumayı sağlayacaktır.

- Radyoaktif materyallerin bulunduğu ortamda yeme, içme, sigara içme, kozmetik uygulaması gibi faaliyetler gerçekleştirilmemelidir.
- Radyoaktif materyallerin pipetlemesi ağızla yapılmamalıdır.
- Eldiven ve laboratuvar kıyafetleri giyerek, radyoaktif materyallerle teması önleyiniz.
- Radyoaktif malzemelerle ilgili bütün işlemler, kalabalık ortamlar ve koridorlardan uzakta uygun bir ortamda gerçekleştirilmelidir.
- Radyoaktif materyaller, bu malzemeler için ayrılmış bir bölümde ve kapalı bir dolapta saklanmalıdır.
- Radyoaktif ürünlerin girişi ve saklanması ile ilgili bir kayıt güncel olarak tutulmalıdır.
- Kontaminasyona uğramış laboratuvar ekipmanları ve tüpler, farklı radyoizotopların çapraz kontaminasyonunu önlemek için ayrı tutulmalıdır.
- Her bir radyoaktif kontaminasyon veya radyoaktif malzeme kayıp vakası, belirlenen prosedürler izlenerek çözümlenmelidir.
- Radyoaktif atıklar, ülkenin kurallarına uyularak ele alınmalı ve yok edilmelidir.

Sodyum asit

Bazı reaktifler koruyucu olarak sodyum asit içermektedir. Sodyum asit, kurşun, bakır veya pirinç ile reaksiyona girebilir ve patlayıcı metal asitler




oluşturabilir. Reaktiflerin, lavabo ve boru sisteminden bol su akıtılarak giderilmesi gerekmektedir.

İnsan kaynaklı materyal

Bu kit içindeki insan kaynaklı materyaller, HIV 1 ve HIV 2 antikorları, HCV antikorları ve Hepatit B yüzey antijenleri (HbsAg) yönünden negatif bulunmuştur. Ancak, hastalık geçirebilecek materyal gibi işlem uygulanmalıdır. Virüs yokluğunu garanti edecek bir metod bulunmamaktadır. Bu kiti, bütün gerekli önlemleri alarak kullanınız.

Bütün plazma numuneleri, hepatitler ve AIDS'i geçirebilecek gibi işlem yapılmalıdır. Atıklar, ülkenin kurallarına göre yok edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Wash Solution (20X)	TEHLİKE	
		
H360		Doğmamış çocukta hasara yol açabilir veya üremeye zarar verebilir.
P201		Kullanmadan önce özel talimatları okuyun.
P280		Koruyucu eldiven, koruyucu kıyafet ve göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.
P308+P313		Maruz kalma veya bu durumdan endişe edilmesi HALİNDE: Tıbbi yardım/bakım alın. Borik Asit 0,1 - 0,3% Sodyum Borat Dekahidrat 0,1 - 0,3%
Succinylation Reagent	UYARI	
		
H302		Yutulduğunda sağlığa zararlıdır.
H319		Ciddi göz tahrişine yol açar.
H335		Solum yolu tahrişine yol açabilir.
P261		Buharını solumaktan kaçının.
P280		Koruyucu eldiven, koruyucu kıyafet ve göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.
P304+P340		SOLUNMASI HALİNDE: Zarar gören kişiyi temiz havaya çıkarın ve kolay biçimde nefes alması için rahat bir pozisyonda tutun.
P312		Kendinizi iyi hissetmezseniz, ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru/hekimi arayın.
P337+P313		Göz tahrişinin geçmemesi halinde: Tıbbi yardım/bakım alın.
P403+P233		İyi havalandırılmış bir alanda depolayınız. Kabı sıkıca kapalı tutun. Süksinik Anhidrit > 95%
Calibrators	UYARI	
		
H315		Cilt tahrişine yol açar.
H319		Ciddi göz tahrişine yol açar.
H335		Solum yolu tahrişine yol açabilir.
P261		Buharını solumaktan kaçının.

P271	Sadece dışarıda veya iyi havalandırılan bir alanda kullanın.
P280	Koruyucu eldiven, koruyucu kıyafet ve göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.
P302+P352	DERİ İLE TEMAS HALİNDE İSE: Bol sabun ve su ile yıkayın.
P304+P340	SOLUNMASI HALİNDE: Zarar gören kişiyi temiz havaya çıkarın ve kolay biçimde nefes alması için rahat bir pozisyonda tutun.
P305+P351+P338	GÖZLE TEMAS HALİNDE: Birkaç dakika dikkatli şekilde suyla yıkayın. Varsa ve çıkarılması kolaysa, kontak lensleri çıkarın. Yıkamaya devam edin.
P312	Kendinizi iyi hissetmezseniz, ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru/hekimi arayın.
P332+P313	Cilt tahrişi oluşması halinde: Tıbbi yardım/müdahale alın.
P337+P313	Göz tahrişinin geçmemesi halinde: Tıbbi yardım/bakım alın.
P362+P364	Kirlenmiş giysinizi çıkarın ve kullanmadan önce su yıkayın.
P403+P233	İyi havalandırılmış bir alanda depolayınız. Kabı sıkıca kapalı tutun.
P405	Kilit altında saklayın.
P501	İçeriği/kabı yerel/ulusal yönetmeliklere göre bertaraf edin. Dimetil Sülfoksit Süksinik Anhidrit Potasyum Hidroksit



Güvenlik Bilgi Formuna techdocs.beckmancoulter.com adresinden ulaşılabilir

NUMUNE TOPLANMASI, SAKLANMASI VE DİLÜSYONU

- Kanı, EDTA içeren silikon cam tüp veya plastik tüplere alınız. Anti-koagulan olarak heparin kullanmayınız. Silikon olmayan cam tüp kullanmayınız, ACTH'ı absorbe eder.
- Plazmayı hemen 2-8°C'de santrifüje ayırınız.
- ACTH çok değişken olduğu, stabil olmadığı için plazma numuneleri -18°C'nin altında saklanmalıdır veya hemen kullanılmalıdır. Tekrar dondurma ve çözme işlemini önlemek için numuneler ayrı tüplere bölünmelidir.
ACTH'ı asilasyon ile stabilize etmek için, santrifüj sonrasında plazma numuneleri Test Prosedürü. Paragrafındaki protokolü izleyerek hemen asile edilebilir. Asile edilmiş numuneler 2-8°C'de 7 gün saklanabilir. Daha uzun süre saklanacaksa -18°C'nin altında dondurulmalıdır. Asile edilmiş numunelerin bölünerek saklanması gerekmez, suksinile edilmiş ACTH numuneleri tekrar dondurma ve çözme işleminden nispeten etkilenmezler.
- Eğer numuneler, en yüksek kalibratörden daha yüksek konsantrasyona sahipse, asile edilmeli ve sonra sıfır kalibratör içinde dilüe edilmelidir.

SAĞLANAN MALZEMELER

2-8°C'de saklandığında bütün reaktifler, kit etiketindeki son kullanma tarihine kadar stabildir. Şişe üzerindeki son kullanma tarihleri sadece üretici tarafından içeriklerin uzun süreli saklanmaları durumunda geçerlidir.

Sulandırma veya seyreltme sonrasında reaktif saklama koşulları Prosedür paragrafında belirtilmiştir.

Kit for determination of ACTH, 100 tubes (Cat # IM2030)

Anti-sACTH monoklonal antikor-kaplanmış tüpler: 2 x 50 tüp (kullanıma hazır)

¹²⁵I-ışaretlenmiş monoklonal anti-sACTH antikor: 11 mL bir şişe (kullanıma hazır)

Şişe, üretim tarihinde, sıvı formda, proteinler, sodyum asit (<0,1) ve boya içeren bir tampon içindeki ¹²⁵I-ışaretlenmiş immunglobulinlerden 814 kBq içerir.

Kalibratörler: 2 mL beş şişe ve 4 mL bir şişe «sıfır» kalibratörü (kullanıma hazır)

Kalibratör süksinik anhidrit ile işlem görmüş insan serumu içerir. Kullanıma hazırdır, üzerinde daha fazla kimyasal işlem yapılmamıştır.

Kalibratör şişeleri, insan serumu ve sodyum asit (<0,1) içinde 0 ile yaklaşık 1.500 pg/mL sentetik sACTH içerir. Tam konsantrasyon, şişe üzerindeki etikette belirtilmiştir. Kalibratörler NIBSC 74/555 uluslararası standardına göre kalibre edilmiştir.

Kontrol serumu: iki şişe (toz halinde)

Dikkat: ACTH molekülünün stabil olmaması nedeniyle aynı kontrol serumundan iki şişe kite dahil edilmiştir. Sulandırdıktan sonra kontrol serumu süksinik anhidrit ile işlem görmeden, dondurarak ta olsa muhafaza etmeyiniz. Bir başka seri için ikinci şişeyi kullanınız.

Şişeler, insan serumunda liofilize sentetik ACTH içermektedir. Beklenen konsantrasyon aralığı kit içinde ayrıca not olarak eklenmiştir.

Alkalin solüsyon: 15 mL bir şişe (kullanıma hazır)

Tampon sodyum asit içerir (<0,1).

Süksinilasyon reaktifi: bir şişe (toz)

Şişe, 600 mg süksinik anhidrit içerir.

DMSO (Dimetilsülfoksit): 3 mL bir şişe (kullanıma hazır)

Fenol kırmızısı ile DMSO çözeltisi. DMSO'nun tamamen eriyene kadar oda sıcaklığında dengelenmesine izin verin. Kullanmadan önce hafifçe karıştırın.

Yıkama solüsyonu (20x): 50 mL şir şişe

Konsantre solüsyon kullanmadan önce dilüe edilmelidir.

DMSO

UYARI



H227	Yanıcı Sıvı
H315	Cilt tahrişine yol açar.
H319	Ciddi göz tahrişine yol açar.
H335	Solumun yolu tahrişine yol açabilir.
P261	Buharını solumaktan kaçının.
P280	Koruyucu eldiven, koruyucu kıyafet ve göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.
P304+P340	SOLUNMASI HALİNDE: Zarar gören kişiyi temiz havaya çıkarın ve kolay biçimde nefes alması için rahat bir pozisyonda tutun.
P312	Kendinizi iyi hissetmezseniz, ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru/hekimi arayın.
P337+P313	Göz tahrişinin geçmemesi halinde: Tıbbi yardım/bakım alın.
P403+P233	İyi havalandırılmış bir alanda depolayınız. Kabı sıkıca kapalı tutun. Dimetil Sülfoksit > 95%

Kit for determination of ACTH, 50 tubes (Cat # B89463)

Anti-sACTH monoklonal antikor-kaplanmış tüpler: 1 x 50 tüp (kullanıma hazır)

¹²⁵I-ışaretleme monoklonal anti-sACTH antikor: 11 mL bir şişe (kullanıma hazır)

Kalibratörler: 2 mL beş şişe ve 4 mL bir şişe «sıfır» kalibratörü (kullanıma hazır)

Kontrol serumu: iki şişe (toz halinde)

Alkalın solüsyon: 15 mL bir şişe (kullanıma hazır)

Süksinilasyon reaktifi: bir şişe (toz)

DMSO (Dimetilsüloksit): 3 mL bir şişe (kullanıma hazır)

Yıkama solüsyonu (20x): 50 mL şiş şişe

GEREKLİ OLAN ANCAK SAĞLANMAYAN MALZEMELER

Standard laboratuvar ekipmanlarına ek olarak aşağıdaki malzemeler gerekmektedir:

- Polipropilen tüpler
- Hassas mikropipet (300 µL; 500 µL).
- Yarı-otomatik pipetler (50 µL, 100 µL, 250 µL ve 2 mL).
- Vorteks tipi mikser.
- Horizontal veya orbital shaker.
- Aspirasyon sistemi.
- 125 iyot için gamma counter seti.

PROSEDÜR

Reaktiflerin hazırlanması

Reaktifleri oda ısısına getiriniz.

Kontrol numunelerinin hazırlanması

Şişe içeriği, üzerindeki etikette belirtilen miktarda distile su ile sulandırılmalıdır. Sulandırdıktan sonra en fazla 10-20 dakika bekletiniz ve köpüklenmeden karıştırınız. Sulandırılmış solüsyonları dondurarak ta olsa, süksinik asit ile işlem görmeden saklamayınız. Diğer seri için ikinci kontrol serumunu kullanınız.

Asilasyon reaktifinin hazırlanması

Şişenin içeriği, etikette belirtilen DMSO hacmi ile sulandırılır. Kullanmadan önce iyice karıştırın ve süksinik anhidritin tamamen çözündüğünü görsel olarak kontrol edin. Sulandırdıktan sonra reaktif, kitin son kullanma tarihine kadar 2-8°C'de stabildir. Saklama sırasında bazen ortaya çıkan hafif bronzlaşma, süksinilasyon reaktifinin performansını hiçbir şekilde etkilemez.

Yıkama solüsyonunun hazırlanması

Şişe içeriğini 950 mL distile su içine boşaltınız ve homojenize ediniz. Dilüe edilmiş solüsyon, 2-8°C'de etiket üzerindeki son kullanma tarihine kadar stabildir.

Test Prosedürü

Kontrol serumu ve numunelerin asilasyonu

Dikkat: Kalibratörleri asile etmeyiniz. Polipropilen tüpe aşağıdaki sıra ile ekleyiniz
500 µL numune veya kontrol serumu 250 µL alkalın solüsyon 50 µL asilasyon reaktifi
Hemen vorteksleyiniz 5 dakika 18-25°C'de inkübe ediniz

Not 1: Aşağıda belirtilen volümler duplika çalışma için yeterlidir. Örneğin duplika olmayan çalışmalar için numune, alkalın solüsyon ve asilasyon reaktiflerinin volümü yarıya indirilmelidir.

Not 2: Asilasyon reaktifinin indikatörü sarı renge dönüşmelidir, bu reaksiyonun normal gerçekleştiğini gösterir. Mor rengin olması reaksiyonun anormal gerçekleştiğini gösterir.

Immünojik aşama 1	Immünojik aşama 2	Sayım
Antikor kaplanmış tüplere ekleyiniz:	Herbir tüpe ekleyiniz	İki kez 2 mL yıkama solüsyonu ile yıkayınız
300 µL of kalibratör, veya asile edilmiş numune veya asile edilmiş kontrol serumu	100 µL tracer	Bağlı sayım/dak (B) ve total sayım/dak (T)'yi 1 dakika sayınız.
1 saat 18-25°C'de Shakerda (>280 rpm) Inkübe ediniz.	2 saat, 18-25°C'de (>280 rpm) çalkalayıcıda inkübe ediniz.	
Tüplerin içeriğini dikkatlice aspire ediniz	Tüplerin içeriğini dikkatlice aspire ediniz (2 «total sayım/dak» tüpü dışında)	

*Total sayım/dak'yi elde etmek için, 2 ek tüpe 100 µL tracer ekleyiniz.

SONUÇLAR

Sonuçlar, standard eğrisinden interpolasyon yoluyla alınır. Eğri, kalibratörlerle aynı anda ölçülen numunedeki ACTH konsantrasyonunu belirlemede hizmet eder.

Standard eğrisi

Kalite kontrol bölümündeki sonuçlar, log dikey ekseninde belirlenmiş radyoaktivite ($sayım/dak_{kal} - sayım/dak_{kalo}$) ve log yatay ekseninde kalibratörlerin analit konsantrasyonu (pg/mL) ile *spline* eğri uydurma kullanılarak hesaplanmıştır.

Diğer veri indirgeme metodları biraz farklı sonuçlar verebilir.

Total aktivite: 257.224 sayım/dak				
Kalibratörler	ACTH (pg/mL)	sayım/dak (n=3)	B/T (%)	sayım/ dak _{Kal} - sayım/ dak _{Kalo}
0	0	182	0,07	-
1	8,2	829	0,32	647
2	26,0	1.847	0,72	1.665
3	87,0	5.505	2,14	5.323
4	451	23.888	9,30	23.706
5	1.322	57.455	22,34	57.273

(Standard eğrisi örneği, hesaplamada kullanmayınız)

Numuneler

Her örnek için dikey ekseninden sayım/dak'ı veya B/T değerini bulun ve karşılık gelen ACTH konsantrasyonunu yatay ekseninden okuyun.

Note: Herbir kalibratör üzerinde belirtilen konsantrasyon değerleri asilasyon sebebiyle numune dilüsyonunu hesaba katmıştır. Numunedeki konsantrasyon hesaplanırken dilüsyon gözardı edilmelidir (standard eğrisinden doğrudan tespit).

BEKLENEN DEĞERLER

Her laboratuvarın kendi normal değerlerini oluşturması önerilmektedir. Aşağıdaki değerler sağlıklı bireylerden alınmıştır ve sadece yol göstericidir.

Numaralandırma	Ortalama	Medyan	2,5. Yüzdilik Dilim	97,5. Yüzdilik Dilim
42	18,5 pg/mL	15 pg/mL	7 pg/mL	41 pg/mL

KALİTE KONTROL

İyi laboratuvar uygulamaları, alınan sonuçların kalitesini garanti altına almak için kontrol numunelerinin düzenli olarak kullanılmasını gerektirir. Bu numuneler, aynen test numuneleri gibi kullanılmalıdır ve sonuçlarının uygun istatistiksel metodlarla analiz edilmesi önerilmektedir.

Paketteki bozulma veya alınan verilerde deęişiklik olduęu durumlarda lütfen yerel distribütörünüzü arayınız veya ařaęıdaki e-mail adresini kullanınız. imunochem@beckman.com

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

(daha fazla bilgi için ekteki "APPENDIX-EK" veri formuna bakınız)

Duyarlılık

Analitik duyarlılık: 0,31 pg/mL

Fonksiyonel duyarlılık: 4,82 pg/mL

Özgüllük

Bu testte kullanılan antikorlar ACTH'a yüksek özgüllüęe sahiptir. ACTH yokluęunda (çapraz reaksiyon) veya varlıęında (interferans) birkaç ilgili moleküle karşı ((ACTH 1-24; 1-10; 18-39; 11-24; α MSH ve POMC), çok düşük düzeyde çapraz reaksiyona rastlanmıřtır.

Kesinlik

Deney-içi

Numuneler, aynı seride 25 kez test edildi. Deęişim katsayısı % 10,0'e eřit veya altında bulundu.

Testler arası

Numuneler 10 farklı seride duplike olarak test edildi. Deęişim katsayısı % 10,8'ya eřit veya altında bulundu.

Doęruluk

Dilüsyon testi

Yüksek konsantrasyonlu numuneler seri olarak dilüe edildi. Alınan düzeltme oranı % 82,3 ve % 119 arasında idi.

Düzeltilme testi

Düşük konsantrasyonlu numuneler bilinen miktarda ACTH ile ekildi. Numuneler daha sonda asile edildi ve tekrar test edildi. Alınan düzeltme oranı % 97,7 ve % 116 arasında idi.

Ölçüm aralıęı (analitik duyarlılıktan en yüksek kalibratöre kadar): 0,31 ile yaklaşık 1.500 pg/mL.

SINIRLAMALAR

Bu kullanım kılavuzuna uyulmaması, sonuçları belirgin olarak etkileyebilir.

Sonuçlar, klinik hikaye, ek testlerden alınan veriler ve dięer bilgilerin de yeraldıęı hastanın toplam klinik durumu ışığı altında deęerlendirilmelidir.

Heparin ACTH'a baęlanır, bu sebeple kullanılmamalıdır. Numuneler EDTA'lı tüpe alınmalıdır.

Antikor içeren testlerde, hasta serumu içindeki heterofil antikorlar tarafından interferans olasılıęı bulunmaktadır. Hayvanlarla sürekli etkileşimde bulunan hastalar veya immunoterapi gören veya ör.HAMA gibi immunoassay ile etkileşim gösteren immunoglobulinler veya immunoglobulin fragmanlarının kullanıldıęı tedavi gören hastalarda antikor oluşturabilir. Bu gibi etkileşim gösteren antikorlar yanlış sonuçlara neden olabilir. Bu tür antikorları taşıdıęından řüphelenilen hasta sonuçlarını dikkatli bir şekilde deęerlendiriniz.

НАБОР ДЛЯ ИММУНОРАДИОМЕТРИЧЕСКОГО IN VITRO ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТГ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Для диагностики *in vitro*.

ПРИНЦИП

Иммунорадиометрическое определение АКТГ относится к анализам типа «сэндвич». В данном наборе используется предварительная химическая модификация АКТГ в сукцинил-АКТГ (сАКТГ).

Так как АКТГ обладает выраженной видовой специфичностью и является крайне нестабильным соединением, получение высокоаффинных антител к кортикотропину человека, пригодных для использования в методах ИРМА, является сложной задачей. Сукцинирование АКТГ, стабилизирующее его молекулу и повышающее иммуногенность при введении животному, позволило получить высокоаффинные моноклональные антитела к сАКТГ человека. Специфичность данных антител предполагает проведение аналогичной химической модификации эндогенного АКТГ в исследуемых образцах с помощью простой и воспроизводимой процедуры с использованием сукцинилирующего реагента, входящего в состав набора. Химическая модификация анализируемых образцов повышает стабильность АКТГ и упрощает работу по их хранению и подготовке к анализу.

В данном наборе используется три вида мышиных моноклональных антител к различным эпитопам молекулы сАКТГ. Модифицированные образцы и калибровочные пробы инкубируют в пробирках, покрытых двумя видами моноклональных антител. Затем удаляют содержимое пробирок и проводят еще одну инкубацию с антителами, мечеными ¹²⁵I. После окончания второй инкубации содержимое пробирок удаляют, отмывают несвязанные меченые антитела и измеряют связанную активность ¹²⁵I. Концентрацию сАКТГ, прямо пропорциональную связанной активности, определяют методом интерполяции по калибровочной кривой.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Общие замечания:

- Флаконы с калибраторами и контролями следует открывать непосредственно перед использованием, во избежание чрезмерного испарения.
- Перед использованием довести реагенты до комнатной температуры.
- Не смешивать реагенты из наборов разных серий.
- Анализ калибровочных проб должен проводиться одновременно с исследуемыми образцами.
- для получения воспроизводимых результатов очень важно соблюдать рекомендуемые условия встряхивания пробирок.
- Анализ рекомендуется проводить в дубликатах.
- Пробирки только для одноразового применения.

Основные правила обращения с радиоактивными веществами.

Получение, использование и транспортировка радиоактивных материалов должны происходить в соответствии с принятыми в данной стране нормами радиационной безопасности и санитарными правилами работы с радиоактивными веществами.

- В лабораториях запрещается принимать пищу, курить, пользоваться косметикой.
- Не пипетировать растворы радиоактивных веществ ртом.
- Для ограничения контакта с радиоактивными материалами рекомендуется использовать разовые перчатки и лабораторную спецодежду.
- Все манипуляции с радиоактивными веществами следует проводить в специально оборудованных для этого помещениях, удаленных от мест постоянного пребывания людей.
- Радиоактивные вещества следует хранить с использованием контейнеров в специально отведенных для этого местах.

- Необходимо регистрировать поступление и расход радиоактивных материалов.
- Лабораторное оборудование и посуду следует хранить отдельно, чтобы предотвратить их загрязнение радиоактивными изотопами.
- Любой случай радиоактивного загрязнения или исчезновения радиоактивного материала должен рассматриваться в соответствии с законодательством.
- Утилизация радиоактивных отходов должна осуществляться в соответствии с законодательством.

Азид натрия

Некоторые компоненты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Вступая в реакцию со свинцом, медью и латунью, азид натрия образует взрывоопасные азиды металлов. Отработанные реагенты следует разбавлять большим количеством водопроводной воды, после чего их можно сливать в канализацию.




Материал человеческого происхождения

Материал человеческого происхождения, входящий в состав компонентов данного набора, не содержит антител к HIV 1, HIV 2, HCV, а также к поверхностному антигену вируса гепатита В (HbsAg). Однако ни один из существующих методов анализа не может гарантировать полного отсутствия инфекционных агентов в исследуемом материале. Поэтому при работе с компонентами набора следует соблюдать необходимые меры предосторожности.

С исследуемыми образцами плазмы крови следует обращаться как с потенциально инфекционным материалом, могущим содержать вирусы СПИД и гепатита. Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с законодательством.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Wash Solution (20X)	ОПАСНО!	
	H360	Может привести к нарушению репродуктивной функции или нанести вред ребенку в утробе матери.
	P201	Перед использованием получить специальные инструкции.
	P280	Надевать защитные перчатки, защитную одежду, средства защиты органов зрения / лица.
	P308+P313	ПРИ воздействии или подозрении на воздействие: обратиться за медицинской помощью. Борная кислота 0,1 - 0,3% Натрия борат, декагидрат 0,1 - 0,3%
Succinylation Reagent	ОСТОРОЖНО!	
	H302	Оказывает вредное воздействие при проглатывании.
	H319	Вызывает серьезное раздражение глаз.
	H335	Может вызывать раздражение дыхательных путей.
	P261	Избегать вдыхания паров.
	P280	Надевать защитные перчатки, защитную одежду, средства защиты органов зрения / лица.

	P304+P340	ПРИ ВДЫХАНИИ: вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении.	DMSO	ОСТОРОЖНО!	Диметил сульфоксид Янтарный ангидрид Калия гидроксид
	P312	Обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР/к врачу в случае плохого самочувствия.			
	P337+P313	Если раздражение глаз продолжается: обратиться к врачу.		H227 H315	Горячая жидкость Вызывает раздражение кожи.
	P403+P233	Хранить в хорошо вентилируемом месте. Держать контейнер плотно закрытым. Янтарный ангидрид > 95%		H319 H335	Вызывает серьезное раздражение глаз. Может вызывать раздражение дыхательных путей.
Calibrators	ОСТОРОЖНО!			P261 P280	Избегать вдыхания паров. Надевать защитные перчатки, защитную одежду, средства защиты органов зрения / лица.
				P304+P340	ПРИ ВДЫХАНИИ: вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении.
	H315	Вызывает раздражение кожи.		P312	Обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР/к врачу в случае плохого самочувствия.
	H319	Вызывает серьезное раздражение глаз.		P337+P313	Если раздражение глаз продолжается: обратиться к врачу.
	H335	Может вызывать раздражение дыхательных путей.		P403+P233	Хранить в хорошо вентилируемом месте. Держать контейнер плотно закрытым.
	P261	Избегать вдыхания паров.			Диметил сульфоксид > 95%
	P271	Использовать только на открытом воздухе или в хорошо вентилируемом месте.			
	P280	Надевать защитные перчатки, защитную одежду, средства защиты органов зрения / лица.			
	P302+P352	ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: промыть большим количеством воды с мылом.			
	P304+P340	ПРИ ВДЫХАНИИ: вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении.		Паспорт безопасности доступен на сайте techdocs.beckmancoulter.com	
	P305+P351+P338	ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промывать водой несколько минут. Снять контактные линзы, если они есть и это легко сделать. Продолжить промывание.			
	P312	Обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР/к врачу в случае плохого самочувствия.			
	P332+P313	При раздражении кожи: обратиться к врачу.			
	P337+P313	Если раздражение глаз продолжается: обратиться к врачу.			
	P362+P364	Снять загрязненную одежду и промыть ее перед повторным использованием.			
	P403+P233	Хранить в хорошо вентилируемом месте. Держать контейнер плотно закрытым.			
	P405	Хранить под замком.			
	P501	Утилизировать содержимое/контейнер в соответствии с местными/национальными положениями			

ПОЛУЧЕНИЕ, ОБРАБОТКА, ХРАНЕНИЕ И РАЗВЕДЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

- Собрать кровь в силиконизированные стеклянные или пластиковые пробирки с ЭДТА. Не использовать гепарин в качестве антикоагулянта. Не использовать стеклянные пробирки, не покрытые силиконом, т.к. они адсорбируют АКТГ.
- Как можно быстрее отделить плазму центрифугированием при 2-8°C.
- В виду того, что АКТГ является крайне нестабильной молекулой, образцы плазмы следует разделить на аликвоты и заморозить при температуре -18°C, если анализ не будет проводиться немедленно. Избегать повторного замораживания и оттаивания проб.
Так как сукцинирование повышает стабильность АКТГ, образцы плазмы можно обрабатывать сразу же после центрифугирования (см. п. Процедура анализа). Сукцинированные образцы можно хранить в течение недели при 2-8 °C. Для более длительного хранения их нужно заморозить при температуре ниже -18 °C. Благодаря достаточно высокой стабильности сАКТГ к замораживанию и оттаиванию, сукцинированные образцы можно не разделять на несколько аликвот.
- Если концентрация АКТГ в образце превышает максимальный калибровочной пробой, его следует сукцинировать, а затем развести «нулевой» калибровочной пробой и провести анализ повторно.

ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Все реагенты стабильны при 2-8°C до окончания срока годности набора указанного на этикетке. Сроки годности, указанные на этикетках флаконов с реагентами, относятся только к их хранению в

производственных условиях вплоть до момента комплектации набора и не распространяются на полученную заказчиком продукцию.

Условия хранения реагентов после их восстановления или разведения указаны в разделе «Процедура».

Набор для определения АКТГ: 100 пробирок (Кат.№ IM2030)

Пробирки, покрытые моноклональными антителами к сАКТГ: 2 x 50 шт. (готовы к использованию)

Метка, раствор моноклональных антител к сАКТГ, меченных ¹²⁵I: 1 флакон, 11 мл (готова к использованию)

На дату изготовления флакон содержит 814 кБк ¹²⁵I-иммуноглобулинов в буфере с белком, красителем и азидом натрия (< 0,1%).

Калибровочные пробы: 5 флаконов по 2 мл + 1 флакон с 4 мл «нулевой» калибровочной пробы (готовы к использованию)

Калибровочные пробы содержат сыворотку крови человека, обработанную янтарным ангидридом, и поэтому не требуют дальнейшей химической модификации.

Калибровочные пробы содержат синтетический сАКТГ в диапазоне концентраций от 0 до приблизительно 1 500 пг/мл в сыворотке крови человека с азидом натрия (<0,1%). Точные концентрации, калиброванные по международному стандарту NIBSC 74/555, указаны на этикетках флаконов.

Контрольная сыворотка: 2 флакона (лиофилизированные препараты)

Внимание: Принимая во внимание нестабильность АКТГ, в состав каждого набора входит по 2 одинаковых флакона с контрольной сывороткой. Остатки растворенной контрольной сыворотки, не обработанной янтарным ангидридом, нельзя сохранять для дальнейшего использования, даже при низкой температуре. При проведении последующих определений рекомендуется использовать второй флакон.

Препарат содержит лиофилизованную сыворотку крови человека с известным содержанием синтетического АКТГ. Ожидаемый диапазон концентраций указан на отдельном листке-вкладыше.

Щелочной раствор: 1 флакон, 15 мл (готов к использованию)

В состав буфера входит азид натрия (<0,1%).

Сукцинилирующий реагент: один флакон (порошок)

Флакон содержит 600 мг янтарного ангидрида.

ДМСО (диметилсульфоксид): 1 флакон, 3 мл (готов к использованию)

Раствор ДМСО с феноловым красным. Дают ДМСО уравновеситься при комнатной температуре до полного расплавления. Осторожно перемешивают перед использованием.

Промывочный раствор (20x): 1 флакон, 50 мл.

Концентрированный раствор должен быть разведен перед использованием.

Набор для определения АКТГ: 50 пробирок (Кат.№ B89463)

Пробирки, покрытые моноклональными антителами к сАКТГ: 1 x 50 шт. (готовы к использованию)

Метка, раствор моноклональных антител к сАКТГ, меченных ¹²⁵I: 1 флакон, 11 мл (готова к использованию)

Калибровочные пробы: 5 флаконов по 2 мл + 1 флакон с 4 мл «нулевой» калибровочной пробы (готовы к использованию)

Контрольная сыворотка: 2 флакона (лиофилизированные препараты)

Щелочной раствор: 1 флакон, 15 мл (готов к использованию)

Сукцинилирующий реагент: один флакон (порошок)

ДМСО (диметилсульфоксид): 1 флакон, 3 мл (готов к использованию)

Промывочный раствор (20x): 1 флакон, 50 мл.

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Помимо стандартного лабораторного оборудования необходимо иметь следующее:

- полипропиленовые пробирки
- полуавтоматические пипетки (300 мкл, 500 мкл)
- полуавтоматические пипетки (50 мкл; 100 мкл; 250 мкл, 2 мл).
- вихревой смеситель типа vortex
- горизонтальный или орбитальный встряхиватель
- водоструйный насос
- гамма-счетчик для измерения активности ¹²⁵I.

ПРОЦЕДУРА

Подготовка реагентов

Довести все реагенты до комнатной температуры.

Растворение контрольной сыворотки

Растворить содержимое одного из флаконов с контрольной сывороткой в указанном на этикетке объеме дистиллированной воды. Через 10 - 20 минут (макс) аккуратно перемешать, избегая образования пены. Остатки растворенной контрольной сыворотки, не обработанной янтарным ангидридом, нельзя сохранять для дальнейшего использования, даже при низкой температуре. При проведении последующих определений рекомендуется использовать второй флакон.

Растворение сукцинилирующего реагента

Содержание флакона восстановлено объемом ДМСО, указанным на этикетке. Тщательно перемешивайте перед использованием и визуально проверяйте полное растворение сукцинилового ангидрида. После восстановления реагент стабилен при 2-8°C до окончания срока годности набора. Легкое потемнение, иногда наблюдаемое при хранении, каким образом не влияет на характеристики сукцинилирующего реагента.

Приготовление промывочного раствора

Смешать содержимое флакона с концентратом промывочного раствора и 950 мл дистиллированной воды. Подготовленный к работе промывочный раствор можно хранить при 2-8°C до окончания срока годности набора.

Процедура анализа

Сукцинилирование контрольных сывороток и анализируемых образцов

<p>Внимание: не сукцинилировать калибровочные пробы</p> <p>В полипропиленовые пробирки внести реагенты в следующем порядке></p> <p>500 мкл образца или контрольной сыворотки 250 мкл щелочного раствора 50 мкл сукцинилирующего реагента</p> <p>Немедленно перемешать на вихревом смесителе Инкубировать 5 минут при 18-25°C</p>
--

Примечание 1: В таблице указано количество реагентов, достаточное для проведения анализа в дубликатах. Если анализ будет проводиться в монопликатах, то используемые объемы образца, щелочного раствора и сукцинилирующего реагента могут быть уменьшены наполовину.

Примечание 2: Если процесс химической модификации АКТГ прошел успешно, то цвет индикатора, входящего в состав сукцинилирующего

реагента, должен стать желтым. В противном случае он будет иметь фиолетовый оттенок.

Иммунологическая стадия 1	Иммунологическая стадия 2	Измерение результатов
В покрытые антителами пробирки последовательно внести:	В каждую пробирку внести по	Промыть пробирки два раза по 2 мл промывочного раствора
300 мкл калибровочных проб, или сукцинизированных образцов и контрольных сывороток	100 мкл метки.	Измерить связанную (В) и общую (Т) активность ¹²⁵ I (имп./мин.) в течение 1 минуты.
Инкубировать 1 час при 18-25°C и постоянном встряхивании (>280 осц./мин.).	Инкубировать 2 часа при 18-25°C и постоянном встряхивании (>280 осц./мин.)	
Тщательно удалить содержимое всех пробирок	Тщательно удалить содержимое пробирок (кроме проб "Т")	

*В две дополнительные пробирки внести по 100 мкл метки для оценки общей активности ¹²⁵I (Т), имп./мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты рассчитывают методом интерполяции по калибровочной кривой, полученной одновременно с анализом неизвестных образцов.

Калибровочная кривая

Результаты в отделении контроля качества рассчитаны с использованием подбора кривой «сплайн» с установленной радиоактивностью (имп/мин_{cal} – имп/мин_{cal0}) по логарифмической вертикальной оси и концентрацией анализа калибраторов по логарифмической горизонтальной оси (пг/мл).

Другие методы обсчета могут давать несколько отличающиеся результаты.

Общий счет: 257 224 имп./мин.				
Калибраторы	АКТГ (пг/мл)	Имп./мин. (n=3)	В/Т (%)	имп/мин _{cal} – имп/мин _{cal0}
0	0	182	0,07	-
1	8,2	829	0,32	647
2	26,0	1 847	0,72	1 665
3	87,0	5 505	2,14	5 323
4	451	23 888	9,30	23 706
5	1 322	57 455	22,34	57 273

(Пример типичной калибровочной кривой. Не использовать для обсчета результатов.)

Образцы

Для каждой пробы определите значение имп/мин или В/Т по вертикальной оси и узнайте соответствующую концентрацию АСТН по горизонтальной оси.

Примечание: На этикетках флаконов с калибровочными пробами указаны концентрации с учетом разведения образца в процессе его сукцинирования, поэтому никакой дополнительной коррек

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В каждой лаборатории рекомендуется установить собственные уровни, соответствующие нормальным. Приведенные ниже значения являются ориентировочными.

Номер	Среднее значение	Медиана	2,5- проце нтиль	97,5- проце нтиль
42	18,5 пг/мл	15 пг/мл	7 пг/мл	41 пг/мл

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

В соответствии с требованиями Good laboratory practices для контроля качества проводимых исследований следует регулярно использовать контрольные образцы, которые должны проходить те же стадии анализа, что и анализируемые пробы. Результаты контроля качества рекомендуется обрабатывать с помощью специальных статистических методов.

В случае серьезного повреждения упаковки, или в случае несоответствия полученных результатов аналитическим характеристикам обратитесь, пожалуйста, к нашим специалистам. E-mail: imunochem@beckman.com или beckman.ru@beckman.com

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

(Более подробная информация приведена в разделе "APPENDIX")

Чувствительность

Аналитическая чувствительность: 0,31 пг/мл

Функциональная чувствительность: 4,82 пг/мл

Специфичность

Антитела, используемые в данном наборе, имеют высокую специфичность к АКТГ. Перекрестная реакция с близкородственными соединениями (АКТГ 1-24; 1-10; 18-39; 11-24; αМСГ и ПОМК) как в отсутствии АКТГ (кросс-реактивность), так и при его наличии (интерференция), крайне мала.

Воспроизводимость

Внутри анализа

Анализ образцов проводили в 25 репликатах в пределах одной серии определений. Коэффициент вариации измеренных уровней АКТГ не превышал 10,0%.

Между анализами

Анализ образцов в дубликатах проводили в 10 различных сериях определений. Коэффициент вариации измеренных уровней АКТГ не превышал 10,8%.

Точность

Тест на разведение

Образцы с высокой концентрацией АКТГ сукцинировали и делали серийные разведения на "нулевой" калибровочной пробе. Величина "открытия" составила от 82,3% до 119%.

Тест на открытие стандартной добавки

Известные количества АКТГ добавляли в образцы плазмы с низкой его концентрацией, сукцинировали полученные пробы и проводили анализ. Величина "открытия" составила от 97,2% до 116%.

Диапазон определений (от аналитической чувствительности до значения наивысшей калибровочной пробы): 0,31 до приблизительно 1 500 пг/мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Нарушение методики проведения анализа может привести к искажению результатов исследования.

Результаты определения должны быть интерпретированы в свете общей клинической картины пациента, включая анамнез, данные других тестов и подходящую иную информацию.

Для получения плазмы нельзя использовать гепарин, так как он связывает АКТГ. В качестве антикоагулянта рекомендуется использовать ЭДТА.

При выполнении анализов с использованием антител возможна интерференция гетерофильными антителами в пробе пациента. У пациентов, имеющих постоянный контакт с животными или проходивших иммунотерапию или диагностические процедуры с использованием иммуноглобулинов или их фрагментов, могут вырабатываться антитела (т.е. НАМА), которые влияют на результаты иммунного анализа. Влияние этих антител может привести к получению ошибочных результатов. Тщательно проверяйте результаты анализов пациентов с подозрением на наличие этих антител.

IRMA ACTH

REF IM2030, B89463

IMUNORADIOMETRIJSKI TEST ZA IN VITRO ODREĐIVANJE ACTH U HUMANOJ PLAZMI Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.

PRINCIP

Imunoradiometrijsko određivanje ACTH je vrsta "sendvič" testa gde se ACTH prvo hemijski modifikuje dodavanjem sukcinil grupe stvarajući sACTH.

ACTH je veoma prisutan u različitim biološkim vrstama i veoma nestabilan. Iz ova dva razloga je posebno teško imunizovati životinje na humane hormone za produkciju antitela sa dovoljnim afinitetom da bi se upotrebili u imunoradiometrijskom testu. Hemijska modifikacija humanog ACTH dodavanjem sukcinil grupe omogućava da se on diferencira od endogenog ACTH imunizovanih životinja i povećava mu se stabilnost. Na taj način se dobijaju monoklonalna antitela sa visokim afinitetom za sukcinil grupu. Specifičnost antitela dobijenih u ovom testu zahteva da se ista hemijska modifikacija primeni i na uzorke. Ovo se jednostavno postiže i dobija se visoka reproducibilnost korišćenjem reagensa za dodavanje sukcinil grupe koji se nalazi u pakovanju. Šta više, hemijska modifikacija uzoraka stabilizuje ACTH što olakšava rukovanje uzorcima.

Koriste se tri mišija monoklonska antitela usmerena na tri različita epitopa ACTH molekule tako da nema međusobne kompeticije. Modifikovani uzorci i kalibratori se inkubiraju u epruvetama obloženim sa dva monoklonalna antitela. Nakon prve inkubacije, sadržaj epruveta se pažljivo aspiriraju. Nakon toga se svakoj epruveti dodaje rastvor koji sadrži treće monoklonalno antitelo obeleženo sa ¹²⁵I. Nakon druge inkubacije, sadržaj epruveta se aspirira i nakon dvostrukog ispiranja, izmeri se vezana radioaktivnost. Nepoznate vrednosti se određuju interpolacijom sa standardne krive. Koncentracija ACTH u uzorcima je direktno proporcionalna radiokativnosti u uzorku.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

Opšte napomene:

- Bočice sa kalibratorima i kontrolama treba da budu otvorene što je kraće moguće da bi se izbeglo prekomerno isparavanje.
- Neka svi reagensi dostignu sobnu temperaturu.
- Ne mešati reagense iz kitova različitih lotova.
- Standardna kriva mora biti obuhvaćena sa svakim testom.
- Pravilno podešavanje mešalice je veoma važno za reproducibilnost testa.
- Preporučeno je da se test vrši u duplikatu.
- Svaka epruveta mora da se upotrebi samo jedanput.

Osnovna pravila bezbednosti od radijacije

Kupovina, posedovanje, upotreba i prenos radioaktivnog materijala je predmet regulative zemlje korisnika. Pridržavanje osnovnih pravila bezbednosti od radijacije treba da obezbedi adekvatnu zaštitu:

- Ne treba jesti, piti, pušiti ili nanositi kozmetiku u prisustvu radioaktivnih materijala.
- Ne pipetirati radioaktivni rastvor ustima.
- Izbegavati svaki kontakt sa radioaktivnim materijalom upotrebom rukavica i laboratorijskog kombinezona.
- Sva manipulacija radioaktivnim supstancama treba da se obavi u odgovarajućem prostoru, udaljenom od hodnika i drugih prometnih mesta.
- Radioaktivni materijali treba da se čuvaju u kontejnerima koji su obezbeđeni u označenom prostoru.
- Zapis o prijemu i skladištenju svih radioaktivnih proizvoda treba da se vodi ažurno.
- Laboratorijska oprema i stakleno posuđe koje je podložno kontaminaciji treba da budu razdvojeni da bi se izbegla unakrsna kontaminacija različitim radioizotopima.
- Svaki slučaj radioaktivne kontaminacije ili gubitka radioaktivnog materijala treba da bude rešen u skladu sa ustanovljenim procedurama.
- Postupanje sa radioaktivnim otpadom treba da bude u skladu sa pravilima utvrđenim u zemlji korisnika.

Natrijum azid




Neki reagensi sadrže natrijum azid kao konzervans. Natrijum azid može da reaguje sa olovom, bakrom ili mesingom i da formira eksplozivne metalne azide. Izbaciti reagense ispiranjem sa velikom količinom vode kroz vodovodne instalacije.

Materijali humanog porekla

Materijal humanog porekla, sadržanog u ovom kitu, je negativan na prisustvo antitela na HIV 1 i HIV 2, antitela na HCV, kao i na Hepatitis B površinski antigen (HBsAg). Štaviše, sa njima treba rukovati kao da su mogući prenosnici bolesti. Ni jedna poznata metoda testiranja ne može u potpunosti potvrditi da virus nije prisutan. Rukujte sa ovim kitom sa svom neophodnom predostrožnošću.

Sa svim uzorcima plazme treba postupati kao da su sposobni za prenos hepatitisa ili AIDS-a, a otpad treba odlagati u skladu s propisima države.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Wash Solution (20X)	OPASNOST	
		
H360		Može da ošteti plodnost ili nerođeno dete.
P201		Potrebna su posebna uputstva pre upotrebe.
P280		Nositi zaštitne rukavice, zaštitnu odeću i zaštitna sredstva za oči/lice.
P308+P313		AKO ste izloženi ili zabrinuti: Potražite medicinski savet/mišljenje. Borna kiselina 0,1 - 0,3% Natrijum-borat dehidrat 0,1 - 0,3%
Succinylation Reagent	UPOZORENJE	
		
H302		Štetno ako se proguta.
H319		Izaziva ozbiljnu iritaciju očiju.
H335		Može da uzrokuje iritaciju respiratornih organa.
P261		Izbegavati udisanje isparenja.
P280		Nositi zaštitne rukavice, zaštitnu odeću i zaštitna sredstva za oči/lice.
P304+P340		AKO SE UDAHNE: Izmestiti izloženo lice na svež vazduh i ostaviti ga da miruje u položaju koji mu olakšava disanje.
P312		Pozvati CENTAR ZA KONTROLU TROVANJA ili doktora/lekara ako se ne osećate dobro.
P337+P313		Ako dođe do iritacije oka: Potražiti medicinski savet/mišljenje.
P403+P233		Čuvati u prostoriji sa dobrom ventilacijom. Čuvati ambalažu čvrsto zatvorenu. Sukcinski anhidrid > 95%
Calibrators	UPOZORENJE	
		
H315		Izaziva iritaciju kože.
H319		Izaziva ozbiljnu iritaciju očiju.
H335		Može da uzrokuje iritaciju respiratornih organa.
P261		Izbegavati udisanje isparenja.

P271	Koristiti samo napolju ili u dobro provetrenim prostorima.
P280	Nositi zaštitne rukavice, zaštitnu odeću i zaštitna sredstva za oči/lice.
P302+P352	AKO DOSPE NA KOŽU: Isprati sa dosta sapuna i vode.
P304+P340	AKO SE UDAHNE: Izmestiti izloženo lice na svež vazduh i ostaviti ga da miruje u položaju koji mu olakšava disanje.
P305+P351+P338	DODIR S OČIMA: Pažljivo ispirati vodom nekoliko minuta. Izvaditi kontaktna sočiva, ako postoje i ako su lako dostupna. Nastaviti sa ispiranjem.
P312	Pozvati CENTAR ZA KONTROLU TROVANJA ili doktora/lekara ako se ne osećate dobro.
P332+P313	Ako dođe do iritacije kože: Potražiti medicinski savet/mišljenje.
P337+P313	Ako dođe do iritacije oka: Potražiti medicinski savet/mišljenje.
P362+P364	Kontaminiranu odeću skinuti i oprati pre korišćenja.
P403+P233	Čuvati u prostoriji sa dobrom ventilacijom. Čuvati ambalažu čvrsto zatvorenu.
P405	Čuvati zaključano.
P501	Odlaganje sadržaja/ambalaže u skladu sa lokalnim/nacionalnim propisima Dimetil sulfoksid Sukcinski anhidrid Kalijum hidroksid



Bezbednosni list je dostupan na internet adresi
techdocs.beckmancoulter.com

PRIKUPLJANJE UZORAKA, OBRADA, SKLADIŠTENJE I RAZBLAŽIVANJE

- Uzimate uzorke krvi u epruvetama za uzorak od silikonskog stakla ili plastike koje sadrže EDTA. Nemojte da koristite heparin kao antikoagulans. Nemojte da koristite epruvete za uzorak od nesilikonskog stakla; one adsorbuju ACTH.
- Odvojite serum ili plazmu od ćelija centrifugiranjem na 2-8°C.
- Pošto je ACTH veoma nestabilan uzorci plazme se moraju čuvati na -18°C, ako se test ne izvodi odmah. Uzorci treba da budu alikvotirani kako bi se izbeglo ponovljeno zamrzavanje i odmrzavanje.
U vidu stabilizacije ACTH dodavanjem sukcinil grupe, uzorcima plazme se sukcinil grupa može dodati odmah nakon centrifugiranja prateći protocol u paragrafu Postupak testa. Uzorci kojima je dodata sukcinil grupa onda mogu da se čuvaju do 7 dana na 2-8°C. Preporučuje se da se na duže periode čuvaju na temperature ispod -18°C. Nije neophodno alikvotirati uzorke kojima je dodata sukcinil grupa jer je ACTH sa adiranom sukcinil grupom relativno neosetljiv na ponovljeno zamrzavanje i odmrzavanje.
- Ako uzorci imaju koncentraciju veću od najvećeg kalibratora, njima se onda mora dodati sukcinil grupa u nultom kalibratoru.

ISPORUČENI MATERIJALI

Svi reagensi kita su stabilni do isteka roka označenog na etiketi kita, pod uslovom da se čuvaju na 2-8°C. Rokovi odštampani na etiketama bočica važe za dugoročno skladištenje komponenti samo od strane proizvođača, pre sastavljanja kita. Ovo ne uzimajte u obzir.

Uslovi skladištenja za reagens nakon rekonstitucije ili razblaživanja navedeni su u proceduri u odeljku.

Kit za određivanje IRMA ACTH, 100 epruveta (Kat #IM2030)

Epruvete obložene Anti-ACTH antitelima: 2 x 50 epruveta (spremnih za upotrebu)

¹²⁵I obeležena monoklonalna anti-ACTH antitela: jedna 11 ml bočica (spremna za upotrebu)

Bočica sadrži 814 kBq, na dan proizvodnje, od ¹²⁵I-obeležene imunoglobulina u formi tečnosti koja sadrži goveđi serumski albumin, natrijum azid (<0,1%) i boju.

Kalibratori: pet bočica od 2 ml + jedna bočica od 4 ml sa „nultim“ kalibratorom (spremno za upotrebu)

Kalibratori sadrže humani serum tretiran sukcinil anhidridom. Zbog toga su spremni za upotrebu i ne smeju biti dodatno hemijski modifikovani.

Bočice sa kalibratorom sadrže između 0 i približno 1.500 pg/ml sintetičkog sACTH u humanom serumu i natrijum azidu (<0,1%). Tačna koncentracija je navedena na nalepnici svake bočice. Kalibratori su kalbrisani prema međunarodnom standardu NIBSC 74/555.

Kontrolni serum: dve bočice (liofilizovane)

Pažnja: zbog nestabilnosti ACTH molekula, u svakom kompletu se isporučuju dve bočice istog kontrolnog seruma. Nakon rekonstitucije, nemojte čuvati kontrolni serum koji nije tretiran sukcinil anhidridom, čak i ako je zamrznut. Koristite drugu bočicu za drugu seriju.

Bočice sadrže sintetički ACTH liofilizovan u humanom serumu. Očekivane vrednosti se nalaze u opsegu koncentracija navedenom na dodatku.

Alkalni rastvor: jedna bočica od 15 ml (spremno za upotrebu)

Pufer sadrži natrijum azid (<0,1%).

Reagens za sukcinilaciju: jedna bočica (prašak)

Bočica sadrži 600 mg sukcinil anhidrida.

DMSO (dimetilsulfoksid): jedna bočica od 3 ml (spremno za upotrebu)

Rastvor DMSO sa fenol crvenom bojom. Sačekajte da se DMSO uravnoteži na sobnoj temperaturi dok se potpuno ne istopi. Blago promešajte pre upotrebe.

Rastvor za pranje (20x): jedna bočica od 50 ml

Koncentrovani rastvor mora da se razblaži pre upotrebe.

DMSO

UPOZORENJE



H227	Zapaljiva tečnost
H315	Izaziva iritaciju kože.
H319	Izaziva ozbiljnu iritaciju očiju.
H335	Može da uzrokuje iritaciju respiratornih organa.
P261	Izbegavati udisanje isparenja.
P280	Nositi zaštitne rukavice, zaštitnu odeću i zaštitna sredstva za oči/lice.
P304+P340	AKO SE UDAHNE: Izmestiti izloženo lice na svež vazduh i ostaviti ga da miruje u položaju koji mu olakšava disanje.
P312	Pozvati CENTAR ZA KONTROLU TROVANJA ili doktora/lekara ako se ne osećate dobro.
P337+P313	Ako dođe do iritacije oka: Potražiti medicinski savet/mišljenje.
P403+P233	Čuvati u prostoriji sa dobrom ventilacijom. Čuvati ambalažu čvrsto zatvorenu. Dimetil sulfoksid > 95%

Komplet za određivanje ACTH, 50 epruveta (Kat. br. B89463)

Epruvete obložene anti-sACTH monoklonskim antitelima: 1 x 50 epruveta (spremno za upotrebu)

¹²⁵I obeležena monoklonalna anti-ACTH antitela: jedna 11 ml bočica (spremna za upotrebu)

Kalibratori: pet bočica od 2 ml + jedna bočica od 4 ml sa „nultim“ kalibratorom (spremno za upotrebu)

Kontrolni serum: dve bočice (liofilizovane)

Alkalni rastvor: jedna bočica od 15 ml (spremno za upotrebu)

Reagens za sukcinilaciju: jedna bočica (prašak)

DMSO (dimetilsulfoksid): jedna bočica od 3 ml (spremno za upotrebu)

Rastvor za pranje (20x): jedna bočica od 50 ml

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU OBEZBEĐENI

Pored standardne laboratorijske opreme, potrebne su sledeće stavke:

- Polipropilenske epruvete.
- Precizne mikropipete (300 µl, 500 µl).
- Poluautomatske pipete (50 µl, 100 µl; 250 µl; 2 ml).
- Vorteks tip miksera
- Horizontalna ili orbitalni šejker.
- Aspiracioni sistem.
- Gama brojač za ¹²⁵I.

POSTUPAK

Priprema reagenasa

Neka svi reagensi dostignu sobnu temperaturu.

Rekonstitucija kontrolnog uzorka

Sadržaj jedne od dve bočice se rekonstituiše sa zapreminom destilovane vode navedenoj na etiketi. Sačekati najviše 10 - 20 minuta i blago mešati da se izbegne penušanje pre nanošenja. Posle rekonstituisanja ne čuvati kontrolni serum kome nije dodata sukcinil grupa, čak ni ako je zamrznut. Koristiti drugu bočicu za druga testiranja.

Priprema reagenasa za dodavanje sukcinil grupe

Sadržaj bočice se rekonstituiše zapreminom DMSO navedenom na nalepnici. Temeljno promešajte pre upotrebe i vizuelno proverite potpuno rastvaranje sukcinil anhidrida. Nakon rekonstitucije, reagens je stabilan na temperaturi od 2 do 8°C do datuma isteka roka trajanja kompleta. Blago tamnjenje, koje se ponekad primećuje tokom skladištenja, ni na koji način ne utiče na performanse reagenasa za sukcinilaciju.

Priprema rastvora za pranje

Sipati sadržaj bočice u 950 ml destilovane vode i homogenizirajte ga. Razblažen rastvor se može čuvati na 2-8°C do isteka roka upotrebe na pakovanju.

Postupak testa

Dodati sukcinil grupu kontrolnom serumu i uzorcima

<p>Pažnja: ne dodavati sukcinil grupu kalibratorima U polipropilensku epruvetu, dodati po sledećem redu:</p> <p>500 µl uzorka ili kontrolnog seruma 250 µl alkalnog rastvora 50 µl reagenasa za dodavanje sukcinil grupe</p> <p>Odmah vorteksirati Inkubirati 5 min na 18-25°C</p>

Primedba 1: Zapremine navedene u gornjoj tabeli su dovoajne za testiranje u duplikatu. Za uzorke koji se ne testiraju u duplikatu, zapremine uzoraka,

alkalnog rastvora i rastvora za dodavanje sukcinil grupe mogu biti smanjene na pola.

Primedba 2: Indikator boje reagenasa za dodavanje sukcinil grupe mora da požuti što ukazuje da se reakcija normalno odvila. Abnormalna reakcija je indikovana kada postoji prisustvo ljubičaste boje.

Imunološki korak 1	Imunološki korak 2	Brojanje
Obloženim epruvetama, sukcesivno dodati:	Svakoj epruveti dodati:	Dva puta operite sa 2 ml rastvora za pranje.
300 µL kalibratora, ili kontrole ili uzorka sa dodatom sukcinil grupom	100 µl obeleživača	Brojati skok cpm (B) i ukupan cpm (T) za 1 min.
Inkubirati 1 sat na 18-25°C uz mešanje (>280 rpm).	Inkubirajte 120 minuta na 18-25°C uz mešanje (>280 rpm).	
Pažljivo aspirirati sadržaj svake epruvete	Pažljivo aspirirati sadržaj epruveta (izuzev 2 epruvete «ukupan cpm»)	

*Dodati 100 µl obeleživača u 2 dodatne epruvete da se dobije ukupni cpm.

REZULTATI

Rezultati su dobijeni interpolacijom sa standardne krive. Kriva služi za određivanje koncentracije ACTH u uzorcima izmerene u isto vreme kad i kalibratori.

Standardna kriva

Rezultati u odeljenju za kontrolu kvaliteta izračunati su upotrebom *splajn* krive koja ima utvrđenu radioaktivnost ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) na logaritamskoj vertikalnoj osi i koncentraciju analita kalibratora na logaritamskoj horizontalnoj osi (pg/ml).

Druge metode redukcije podataka mogu dati neznatno različite rezultate.

Ukupna aktivnost: 257.224 cpm				
Kalibratori	ACTH (pg/ml)	cpm (n=3)	B/T (%)	cpm _{cal} - cpm _{cal0}
0	0	182	0,07	-
1	8,2	829	0,32	647
2	26,0	1.847	0,72	1.665
3	87,0	5.505	2,14	5.323
4	451	23.888	9,30	23.706
5	1.322	57.455	22,34	57.273

(Primer standardne krive, ne koristiti za proračun)

Uzorci

Za svaki uzorak pronađite vrednost cpm ili B/T na vertikalnoj osi i pročitajte odgovarajuću koncentraciju ACTH na horizontalnoj osi.

Napomena: Koncentracije navedene na etiketi svake bočice kalibratora uzimaju u obzir diluciju uzorka tokom koraka dodavanja sukcinil grupe. Ova dilucija se mora zanemariti kada se računa koncentracija u uzorku (direktno određivanja na standardnoj krivi).

OČEKIVANE VREDNOSTI

Laboratorije trebaju da uspostave svoje vlastite referentne vrednosti. Sledeće vrednosti dobijene kod zdravih osoba su samo indikativne.

Broj	Srednja vrednost	Srednji	2,5 percentil	97,5 percentil
42	18,5 pg/ml	15 pg/ml	7 pg/ml	41 pg/ml

KONTROLA KVALITETA

Dobra laboratorijska praksa nalaze da se kontrolni uzorci moraju redovno koristiti da bi se osigurao kvalitet dobijenih rezultata. Ti uzorci se moraju obraditi na potpuno isti način kao i testirani uzorci, i preporučeno je da se njihovi rezultati analiziraju upotrebom odgovarajućih statističkih metoda.

U slučaju oštećenja pakovanja ili ako dobijeni podaci pokazuju neku promenu performansi, molimo da kontaktirate vašeg lokalnog distributera ili upotrebite sledeću e-mail adresu: imunochem@beckman.com

KARAKTERISTIKE PERFORMANSI

(za više detalja, videti "DODATAK")

Osetljivost

Analitička osetljivost: 0,31 pg/ml

Funkcionalna osetljivost: 4,82 pg/ml

Specifičnost

Antitela upotrebljena u imunotestu su visoko specifična za ACTH. Izuzetno niska unakrsna reaktivnost je dobijena protiv povezanih molekula (ACTH 1-24; 1-10; 18-39; 11-24; αMSH i POMC) u odsustvu (ukršena reaktivnost) ili u prisustvu (interferenca) ACTH.

Preciznost

Unutar serije

Uzorci seruma su testirani 25 puta u istoj seriji. Ustanovljeni su koeficijenti varijacije manji ili jednaki 10,0%.

Između serija

Uzorci seruma su testirani u duplikatu u 10 različitih serija. Ustanovljeni su koeficijenti varijacije manji ili jednaki 10,8%.

Tačnost

Test razblaživanja

Uzorcima seruma visoke koncentracije je dodata sukcinil grupa pa su onda serijski razblaživani sa nultim kalibratorom. Dobijeni recovery procenti su bili između 82,3% i 119%.

Recovery test

Uzorcima seruma sa niskim koncentracijama su mešani sa poznatim količinama ACTH. Dobijeni recovery procenti su bili između 97,2% i 116%.

Opseg merenja (od analitičke osetljivosti do najvišeg kalibratora): 0,31 do približno 1.500 pg/ml.

OGRANIČENJA

Ne pridržavanje instrukcija u ovom uputstvu pakovanja može značajno da utiče na rezultate.

Rezultate treba interpretirati u skladu sa celokupnom kliničkom slikom pacijenta, uključujući i kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i drugim odgovarajućim informacijama.

Heparin se vezuje ACTH i zbog toga se ne sme koristiti. Uzorke zato treba skupljati sa EDTA.

Za testove koji upotrebljavaju antitela, postoji mogućnost interferencije od strane heterofilnih antitela u uzorku pacijenta. Pacijenti koji su bili redovno u kontaktu sa životinjama ili su primili imunoterapiju ili dijagnostičke procedure koje koriste imunoglobuline ili imunoglobulinske fragmente mogu proizvesti antitela, npr. HAMA, koji utiču na imunotestove. Takva ometajuća antitela mogu uzrokovati pogrešne rezultate. Pažljivo procenjivati rezultate pacijenata za koje se sumnja da imaju ova antitela

APPENDIX

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Specificity

The specificity of the assay was determined by measuring the ACTH equivalents given by high concentrations of related molecules either in the absence (cross-reactivity) or the presence (interference) of ACTH.

These assays were done with plasma samples to which the related molecules, acylated according to the kit protocol, had been added.

Cross-reactivity

Related molecule	Concentration (pg/mL)	Concentration of ACTH measured (pg/mL)
ACTH 1-24	1,000	92
	500	54
	200	18
ACTH 1-10	1,000	0
	500	0
	200	0
ACTH 18-39	2,000	0
	1,000	0
	500	0
ACTH 11-24	100,000	0
	50,000	0
	1,000	0
α -MSH	1,000	0
	500	0
	200	0
POMC	1,000	4
	500	2
	200	<2

Interference

Spiking	Concentration of ACTH expected (pg/mL)	Concentration of ACTH measured (pg/mL)
ACTH + ACTH 1-24 (1,000 pg/mL)	263	359
ACTH + α -MSH (1,000 pg/mL)	263	257

Precision

Intra-assay

EDTA plasma	P1	P2	P3
Number of determinations	25	25	25
Mean value (pg/mL)	6.84	73.62	400.1
C.V., (%)	9.98	6.77	2.63

Inter-assays

EDTA plasma	P1	P2	P3
Number of determinations	10	10	10
Mean value (pg/mL)	16.73	373.7	579.9
C.V., (%)	10.8	6.53	6.86

Accuracy

Dilution test

Three samples containing ACTH were succinylated, diluted in the zero calibrator and then assayed according to the procedure of the kit.

EDTA plasma	Dilution factor	Measured conc. (pg/mL)	Expected conc. (pg/mL)	Ratio (%) Measured/Expected
P1	-	380.9	-	-
	1:2	226.5	190.4	118.9
	1:4	104.3	95.21	109.5
	1:8	51.78	47.61	108.8
	1:16	21.52	23.80	90.41
	1:32	11.87	11.90	99.73
P2	-	467.0	-	-
	1:2	273.1	233.5	117.0
	1:4	123.3	116.7	105.6
	1:8	54.42	58.37	93.23
	1:16	28.05	29.19	96.11
	1:32	12.01	14.59	82.30
P3	-	307.6	-	-
	1:2	159.9	153.8	104.0
	1:4	89.66	76.91	116.6
	1:8	38.22	38.45	99.39
	1:16	18.58	19.23	96.64

Recovery test

Known amount of ACTH was added to EDTA plasma samples succinylated and assayed according to the procedure of the kit.

EDTA plasma	Endogen. conc. (pg/mL)	Added conc. (pg/mL)	Expected conc. (pg/mL)	Measured conc. (pg/mL)	Ratio (%) Measured/Expected
P1	16.90	13.09	29.18	30.13	103.3
	16.02	18.62	34.64	33.67	97.20
	15.69	45.59	61.28	64.65	105.5
P2	59.10	18.62	77.72	87.96	113.2
	56.70	71.46	128.2	142.8	111.4
	54.49	120.2	174.7	203.3	116.4
P3	97.20	36.72	133.9	138.8	103.6
	94.58	71.46	166.0	170.4	102.6
	90.89	120.2	211.1	228.3	108.2

¹²⁵I Characteristics

$T_{1/2} (^{125}\text{I}) = 1443 \text{ h} = 60.14 \text{ d}$

¹²⁵ I	E (MeV)	%
Y	0.035	
X	0.027	114
	0.032	25

Symbols Key

REF Product Reference / Référence du produit / Produktreferenz / Riferimento prodotto / Número de referencia del producto / Referência do produto / Produktreferenz / Κωδικός αναφοράς προϊόντος / 产品参考 / Gaminio nuoroda / Termékszám / Dane referencyjne produktu / Reference k produktu / Referenčné označenie výrobku / 제품 참조 자료 / Úrün Referansı / Ссылка на продукт / Референция за продукт / 產品參考

IVD In Vitro Diagnostic / Diagnostic in vitro / In-vitro-Diagnostikum / Diagnostica in vitro / Para diagnóstico in vitro / Diagnóstico in vitro / InVitro-diagnostik / Για διάγνωση in vitro / 体外诊断 / In vitro diagnostika / In vitro diagnosztikai felhasználásra / Diagnostyka in vitro / Diagnostika in vitro / 체외 진단 / In Vitro Diagnostik / Diagnostika in vitro / Ин vitro диагностика / 體外診斷

CONTENTS Contents / Contenu / Inhalt / Contenuto / Contenido / Conteúdo / Περιεχόμενο / 組成 / Rinkinio sudėtis / Tartalom / Zawartość / Obsah / Obsah / 내용물 / İçindekiler / Содержание / Съдържание / 目錄

M Manufactured by / Fabriqué par / Hergestellt von / Prodotto da / Fabricado por / Tillverkas av / Κατασκευαστής / 製造商 / Gamintojas / Gyártó: / Producent / Výrobce / Výrobca / 제조 / Üretici / Изготовлено / Произведено от / 製造商

Σ Contains sufficient for <n> tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenido suficiente para <n> ensayos / Conteúdo suficiente para "n" ensaios / Räcker till "n" antal tester / Περιεχόμενο επαρκές για "n" εξετάσεις / 含量足够 <n> 次测试 / Turinio pakanka <n> tyrim / <n> teszthez elegendő mennyiséget tartalmaz / Zawartość wystarcza na <n> testów / Lze použiť pro <n> testů / Obsah vystačí na <n> testov / <n> 테스트에 대해 충분한 양 포함 / <n> sayida test için yeterlidir / Содержит достаточно для количества тестов: <n> / Съдържа достатъчно за <n> теста / 內容物足夠執行 <n> 次測試

CE CE Mark / Marquage CE / CE-Kennzeichnung / Marchio CE / Mercado CE / Marcação CE / CE-märkning / Σήμανση CE / CE 标志 / CE ženklas / CE jelzés / Znak CE / Značka CE / Označenie CE / CE 표시 / CE İşareti / Маркировка CE / CE маркировка / CE 標識

SDS Safety Data Sheet / Fiche technique santé-sécurité / Sicherheitsdatenblatt / Scheda dati di sicurezza / Hoja de datos de seguridad / Ficha de Dados de Segurança / Säkerhetsdatablad / Φύλλο Δεδομένων Ασφάλειας / 安全数据单 / Saugos duomenų lapas / Biztonsági adatlap / Karta Charakterystyki Bezpieczeństwa / Bezpečnostní list / Bezpečnostný list / 안전보건자료 / Güvenlik Bilgi Formu / Паспорт безопасности / Информационен Лист За Безопасност / 安全性資料表

I Consult Instructions for Use / Consultez le mode d'emploi / Siehe Gebrauchsanweisung / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las Instrucciones de uso / Instruções de utilização / Konsultera bruksanvisning / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / 请参阅使用说明 / Skaitykite naudojimo instrukciją / Olvassa el a használati utasítást / Zapoznać się z instrukcją użycia / Postupujte podle návodu k použití / Prečítajte si návod na použitie / 사용 안내 문 / Kullanma Talimatına Başvurun / Обратитесь к инструкциям / Вижте Инструкциите за употреба / 請參閱使用說明

T Temperature range(s) / Plage(s) de température / Temperaturbereich(e) / Intervallo(i) di temperatura / Intervalo(s) de temperatura / Intervalo(s) de temperatura / Temperaturintervall / Εύρος(η) θερμοκρασίας / 溫度範圍 / Temperaturüros diapazonas (-ai) / Hőmérséklet-tartomány(ok) / Zakres(y) temperatury / Rozsahy teplot / Rozsah(y) teploty / 온도 범위 / Staklik aralıkları / Диапазон(-ы) температуры / Температурен(ни) диапазон(и) / 溫度範圍

! Caution / Précaution / Achtung / Attenzione / Precaución / Atenção / Försiktighet / Προσοχή / 注意事项 / Įspėjimas / Figyelem / Uwaga / Upozornění / Upozornenie / 주의 / Dikkat / Внимание / 注意

S Expiration Date / Date D'expiration / Verfallsdatum, Verw. bis: / Data Di Scadenza / Fecha De Caducidad / Data de validade / Utgångsdatum / Ημερομηνία λήξης / 失效日期 / Galiojimo data / Lejárati idő / Data ważności / Datum expirace / Datum expirácie / 만료 날짜 / Son Kulanma Tarihi / Срок годности / Срок на годност / 到期日

LOT Lot Number / Numéro de lot / Chargennummer / Numero di lotto / Lote número / Número de lote / Satsnummer / Αριθ. παρτίδας / 批次号 / partijos numeris / Tételszám / Numer serii / Číslo sarže / 로트 번호 / Lot Numarasi / Номер партии / Номер на партида / 批號

MW Date of Manufacture / Date de Fabrication / Herstellungsdatum / Data di Fabbricazione / Fecha de Fabricación / Data de Fabrico / Produktionsdatum / Ημερομηνία Παραγωγής / 生产日期 / Pagaminimo Data / Gyártás Dátuma / Data Produkcji / Datum Výroby / Dátum Výroby / 제조 일자 / Üretim Tarihi / Дата Производства / Дата на Производство / 製造日期



Biohazard / Risque biologique / Biogefährdung / Rischio biologico / Riesgo biológico / Risco biológico / Biologisk fara / Βιολογικός κίνδυνος / 生物危害 / Biologisk fara / Veszélyes biológiai anyag / Zagrożenie biologiczne / Biologické riziko / Biologické riziko / 생물학적 위험 / Biyolojik tehlike / Биологическая опасность / Биологична опасност / 生物危害



Radioactive / Radioactif / Radioaktiv / Radioattivo / Radiactivo / Radioactivo / Radioaktiv / Ραδιενεργό / 放射性 / Radioaktivyvioji medžiaga / Radioaktiv / Radioaktivnyy / Radioaktivní / Rádioaktívny / 방사성 / Radyoaktif / Радиоактивный / Радиоактивен / 具放射性

DANGER

DANGER / DANGER / GEFAHR / PERICOLO / PELIGRO / PERIGO / FARA / ΚΙΝΔΥΝΟΣ / 危險 / PAVOJUS / VESZÉLY / NIEBEZPIECZEŃSTWO / NEBEZPEČÍ / NEBEZPEČENSTVO / 위험 / TEHLİKE / ОПАСНО / ОПАСНОСТ / 危險

Ag ^{125I}

Ab ^{125I}

Tracer / Traceur / Tracer / Marcato / Trazador / Marcador / Tracer / Ανιχνευτής / 追踪剂 / Atsekamoji medžiaga / Nyomjelző / Znacznik / Radioindikátor / Indikátor (tracer) / 트레이서 / Tracerlar / метка / Индикатор / 追蹤劑

CAL

CAL 0

Calibrator / Calibrateur / Kalibrator / Calibratore / Calibrador / Calibrador / Kalibrator / Βαθμονομητής / 校准品 / Kalibravimo medžiaga / Kalibrátor / Kalibrator / kalibrátor / Kalibrátor / 보정 물질 / Kalibratör / Калибратор / Калибратор / 校正液

CTRL

Control / Contrôle / Kontrolle / Controllo / Control / Controllo / Kontrolle / Μάρτυρας / 质控品 / Kontroliné / Kontroll / Kontrola / Kontrola / Kontrola / 정도관리 / Kontrol / Контроль / Контролна / 質控品

TUBE

Tubes / tubes / Röhrchen / provette / tubos / Tubos de amostra / Provrör / σωληνάρια / 试管 / Mégintüveliai / Csövek / Probówki / Zkumavky / Skúmavky / 튜브 / Tüpler / пробирки / Bulgarian / 試管

IFU

Instruction for Use / Mode d'emploi / Gebrauchsanweisung / Istruzioni per l'uso / Instrucciones de uso / Instruções de utilização / Bruksanvisning / Οδηγίες χρήσης / 使用说明 / Naudojimo instrukcija / Használati utasítás / Instrukcja użycia / Návod k použití / Návod na použitie / 사용 안내 / Kullanma Talimatı / Инструкции / Инструкции за употреба / 使用說明

SOLN | WASH | 20x

Wash Solution Concentrate 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Waschlösungskonzentrat 20X / Concentrato di soluzione di lavaggio 20X / Solución de lavado concentrada 20X / Concentrado de solução de lavagem 20X / Tvättlösingskoncentrat 20X / Συμπυκνωμένο διάλυμα πλύσης 20X / 浓缩清洗液 20X / Plovimo tirpalo koncentratas 20X / 20X mosóoldat-konzentrátum / Koncentrat 20X roztworu płuczacego / Koncentrát mycího roztoku 20X / Koncentrát premývacieho roztoku 20X / 농축 세척액(20배) / Yıkama Çözeltisi Konsantresi 20X / Концентрат промычного раствора 20X / Концентрат на разтвор за промиване 20X / 清洗溶液濃縮 20X

SOLN | ALK

Alkaline Solution, Solution alcaline, Alkalische Lösung, Soluzione alcalina, Solución alcalina, Solução alcalina, Alkalisk lösning, Αλκαλικό διάλυμα, 碱性溶液, Alkalino tirpalas, Lúgos oldat, Roztwór zasadowy, Zásaditý roztok, Alkalický roztok, 알칼리성 용액, Alkalín Çözeltisi, Щелочной раствор, Алкален разтвор, 鹼性溶液

REAG | SUC

Succinylation Reagent, Réactif de succinylation, Succinylierungsreagenz, Reattivo di succinilazione, Reactivo de succinilación, Reagente de Succinilação, Succinylation Reagent, Αντιδραστήριο ακετυλίωσης, 琥珀酰化试剂, Succinylation Reagent, Succinylation Reagent, Odczynnik do sukcylnylacji, Sukcynylacni reagencie, Sukcynylačné činidlo, 석시닐화 시약, Süksinilleme Reaktifi, Реагент для сукцинирования, Реактив за сукциниране, 琥珀酰化試劑

DMSO

Dimethyl Sulfoxide, Diméthyle sulfoxyde, Dimethylsulfoxid, Dimetilsolfossido, Dimetilsulfóxido, Dimetilsulfóxido, Dimetilsulfoxid, Διμεθυλοσουλφοξίδιο, 二甲亚砜, Dimetilsulfoksidas, Dimetil-szulfoxid, Dimetylosulfoftlenek, Dimetilsulfoxid, Dimetyl sulfoxid, 디메틸 술폭시드, Dimetil Sülfoksit, Диметил сульфоксид, Диметилсулфоксид, 二甲基亞砜