

Nem-konjugált Ösztriol [¹²⁵I] RIA készlet (REF: RK-3CT)

A nem-konjugált Ösztriol [¹²⁵I] RIA készlet humán szérumban nem konjugált ösztriol tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0-120 nmol/l (0- 34 ng/ml) mérési tartományban.

Bevezetés

Az Ösztriol, az Ösztron és Ösztradiol mellett, az egyik legfontosabb női szteroid hormon. Termelése csaknem kizárólag a terhesség alatt történik olyan prekursorból, amely a magzat mellékvesekérgében keletkezik és a magzati máj, illetve a méhlepény átalakít ösztriollá. Az anyai májban a hormon nagy része konjugálódik (szulfátok és glukuronidok formájában), ezt követően kiürül a vizeletben kb. 20 perces felezési idővel. Az anya vérkeringésében a „szabad” (nem konjugált) ösztriol a totál ösztriol kb. 10%-át képezi. Koncentrációja a terhesség előrehaladásával emelkedik és az utolsó harmadában lesz 23 nagyságrenddel magasabb. Ebben az időszakban, az ösztriol koncentráció csökkenése a magzat rosszullétére utalhat. Számos tanulmány bizonyítja, hogy más paraméterek figyelembevételével együtt (szabad βhCG, AFP, anyai életkor) az ösztriol meghatározás használható a Down kór kockázat megállapítására a terhesség második trimeszterében. Ezek a tanulmányok általában a 0,7 MOM (multiple of median) alatti értékeket kórosnak tekintik, de a nem-konjugált Ösztriol eredmény egységében nem diagnosztikai értékű. A szűréshez egy megfelelő számítógépes (súlyozott) kiértékelés és a felhasználó laboratórium saját MOM értékek meghatározása szükséges.

A mérés elve

A készlet működése a kompetitív radioimmunoassay elvén alapul. A ¹²⁵I-dal jelzett állandó mennyiségű Ösztriol vetélkedik a mintában jelenlévő (mérando) jelzetlen Ösztriollal a korlátozott számú antitest köthelyekért. A reakció lejárásakor alatt a reaktív kémcső az antitesthez kötött antigént megköti. A bevont cső felületén lévő jelzett antigén radioaktivitása, amely fordítottan arányos a minta nem-konjugált Ösztriol koncentrációjával, gamma-számlálóval mérhető.

A standardok relatív kötésiértékei és koncentrációi ismeretében szerkesztett mérő-(standard) görbéről, a minták relatív kötésiértékei alapján, azok nem-konjugált Ösztriol koncentrációja meghatározható.

A készlet tartalma

- 1 üveg TRACER (55 ml), ¹²⁵I-Ösztriol pufferes oldat, radioaktivitása < 220 kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.
- 1 üveg ANTISZÉRUM (55 ml), pufferes oldat, 0,1 % nátrium-azid tartósítással.
- 6 üveg STANDARD (6 x 0,5 ml), humán szérumban, 0,1 % nátrium-azid tartósítással, koncentrációjuk (S1 - S6): 0; 1,5; 4,5; 14; 40; 120 nmol/l.
- 1 üveg ELLENORZO SZÉRUM, liofilizált, 0,1 % nátrium-azid tartósítással, feloldandó 0,5 ml desztillált vízzel. Koncentrációját a

kíséző minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

5. 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt muanyag dobozban.

1 db Minőségellenőrzési bizonylat
1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsotartó, rugalmas kémcsörögzőtő kiképzésben; pipetták (50 és 500 µl térfogatra, eldobható muanyag hegyekkel); rázógép; kémcsőzáró muanyag fólia; papírvatta vagy itatóspapír; gamma-számláló

Ajánlott:

Sorozat-adagoló (ismétlő) pipetta

A mérando minták gyűjtése és tárolása

Amennyiben a nem-konjugált Ösztriol meghatározás a mintavételt követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat 2-8°C-on, későbbi felhasználás esetén -20°C alatt tartjuk. A mélyhűtött mintákat hagyjuk felolvadni, és felhasználás előtt alaposan homogenizáljuk.

A reagensek elokészítése, tárolása

A nem-konjugált Ösztriol RIA készletet 2-8°C-on tároljuk felhasználásig.

A TRACER és ANTISZÉRUM oldatok az első felnyitást követően 2-8°C-on tárolhatóak a készlet lejárati idején belül.

A STANDARD oldatok felbontás után -20°C-on tárolhatóak a készlet lejárataig.

A liofilizált ELLENORZO SZÉRUMOT oldjuk fel 500 µl desztillált vízzel, örvénykeverővel homogenizáljuk, ügyelve a habzás elkerülésére. Az oldatot 20 percig még ne használjuk fel. A visszaoldott ellenőrző szérumban -20°C-on a készlet lejárataig tárolható.

FIGYELEM!

A mérés megkezdése előtt a reagens oldatokat, és a mérando mintákat is engedjük szobahőmérsékletre melegedni majd alaposan homogenizáljuk őket, de kerüljük el a habzást.

A meghatározás menete

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

1. Jelöljük meg két-két csövet: összes beütésszám (T), standard (S1-S6), ellenőrző szérumban (C); vizsgálandó minták (M).
2. Mérjük 50 µl STANDARDot, ill. ELLENORZO SZÉRUMOT, és szérummintát a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csöbe 500 µl TRACER oldatot.
4. Mérjük minden csöbe 500 µl ANTISZÉRUM oldatot, kivéve a T jelű csöveket.

A kinetikus effektus kiküszöbölése érdekében az utolsó reagens (antiszérumban) hozzáadásának időtartamát a lehetséges minimumra kell szorítani. Általános szabályként ez a lépés ne legyen 5 percnél

hosszabb. Ez célszerűen sorozat-adagoló pipettával biztosítható.

5. Helyezzük a csöveket rögzítő kémcsotartó állványba, fedjük le őket légmentesen muanyag fóliával. Állítsuk be a rázás sebességét úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 2 órán át szobahőmérsékleten (800 rpm ajánlott).
6. A csotartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a csövek tartalmát, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.
7. Mérjük meg a csövek radioaktivitását gamma-számlálóval és számítsuk ki az eredményt az alábbiak szerint.

1. Táblázat Folyamatábra, pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

	T	S1-S6	C	M
Standard		50		
Ell. szérumban			50	
Minta				50
Tracer	500	500	500	500
Antiszérumban		500	500	500
Kevertetés, 2 óra szobahőmérsékleten				
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Radioaktivitás mérés (min. 60 sec/cso)				
Adatfeldolgozás				

Az olyan RIA automatáknál, ahol 1 ml a maximális bemérési térfogat, a reagensek 90%-át mérjük be (45 µl ST/C/M és 450 µl TR és AS)

Az eredmények számítása

Számítsuk ki a párhuzamos csövek beütésszámainak középértékét.

Számítsuk ki a standardok, az ellenőrző szérumban és a minták kötési százalékát az alábbi egyenlettel:

$$S_{2-6} / C / M_x \text{ (cpm)}$$

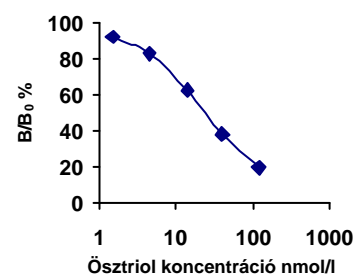
$$B/B_0(\%) = \frac{S_i \text{ (cpm)}}{S_1 \text{ (cpm)}} \times 100$$

Ábrázoljuk a standardokra mért beütésszámokból számított B/B₀ értékeket a standard koncentrációjának függvényében. Az így kapott standard görbéről olvassuk le a vizsgált minta B/B₀ értékeihez tartozó koncentrációt (1. ábra)

A korszerű mérőeszközök lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követően azonnali ("on-line") számítógépes adatfeldolgozást is.

Egy jellegzetes mérési adatsort foglal össze a 2. Táblázat.

1. ábra
Jellemző standardgörbe
(Mintamérésre nem használható!)



2. Táblázat Jellemző mérési eredmények

Csővek	Átlag cpm	B/T%	B/B0 %
T	66391		
S1	34364	51,8	
S2	31701	47,7	92,2
S3	28477	42,9	82,9
S4	21406	32,2	62,3
S5	12997	19,6	37,8
S6	6729	10,1	19,6
C	17934	27,0	52,2

Minoségi jellemzők

Érzékenység

Az analitikai érzékenység az a legkisebb anyagmennyiség, amelyre a várható válasz szignifikánsan különbözik a 0 dózissal kapott értéktől. Értéke egyenlő a 0-standard + 2*SD kötési értékhez tartozó koncentrációval. Az assay kimutatási határa 0,4 nmol/l, 15 párhuzamosan végzett mérésből meghatározva.

Specifitás

Keresztreakciók:

Lehetséges keresztreakciók terhesség alatt	Hozzáadott nM szteroid	Mért nM ösztriol
Ösztriol-3-glukoronid	100	3,0
Ösztriol-3-szulfát	1000	26,8
17β-Ösztradiol	1000	15,7
Kortizol	1600	ND
Ösztron	7000	9
Progeszteron	10000	2,2
DHEA-SO ₄	30000	ND

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 15 párhuzamosan egy mérési sorozatban, az inter-assay pontosságot meghatározásonként 2 párhuzamosan, 10 független mérésben határoztuk meg.

Intra-assay		Inter-assay	
átlag nmol/l	CV%	átlag nmol/l	CV%
3,9	6,4	3,5	6,3
9,3	3,9	8,7	5,6
12,0	2,6	11,3	2,1
21,4	3,9	20,6	5,4
55,2	3,6	51,7	4,1
80,7	4,1	76,8	3,8
97,6	4,2	89,5	3,8

Addíciós teszt

A mérés során 6 db egyedi humán szérumból mintába ismert mennyiségű standard antigént vittünk be különböző koncentrációban és vizsgáltuk a kiindulási és a megemelkedett koncentráció szinteket. Az átlag visszanyerés 101,7% volt (92% – 112%).

Várható értékek a terhesség második harmadában

Terhes. Hét	Mintaszám	1 MOM (nmol/l)
15	79	9,7
16	121	10,3
17	99	11,3
18	61	12,9
19	21	14,8

A megadott értékek csak tájékoztató jellegűek, és nem helyettesíthetik a készletet felhasználó laboratóriumok saját területekre jellemző várható értékek megállapítását! Nem terhes nők esetén (n = 40) a minták átlag koncentrációja $0,74 \pm 0,75$ nM.

Átszámítás az SI mértékegységre

1 nmol/l = 0,2884 ng/ml
1 ng/ml = 3,467 nmol/l

Az assay korlátai

- A készletben található komponensek szérumban történő nem-konjugált ösztriol mérésre optimalizáltak.
- Kerüljük a minták ismételt visszafagyasztását!
- Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumból ne használjunk mérésre!
- A mérések eredményét más ide vonatkozó klinikai eredményekkel együtt használjuk fel!
- A megfelelő, validált szoftver nélkül, ezen készlet nem alkalmas a triszómia 21 kockázatának meghatározására!

Megjegyzések, tanácsok

1) **Figyelem, hibaforrás!** A bevont kémcsövek nem tartalmaznak külön feliratot. Közöséges kémcsövekkel való összetévesztésük komoly mérési hibákhoz vezethet!

2) **Figyelem, hibaforrás!** Kevertetésre csak olyan kémcsótartó használható, amelyben a csövek rögzítve vannak. "Lötyögős" állványban a kémcsövek tartalma egyáltalán nem, vagy egyenetlenül keveredik, annak ellenére, hogy maga az állvány és a kémcsó mozgásban van. Egyetlen, illetve tökéletlen keverés teljesen hamis mérési eredményekhez vezethet!

3) **Figyelem, hibaforrás!** Kevertetésre olyan rázógépet használjunk, amelynek használata során nem melegszi az alja/közepe. Kerüljük a huzatot is (ablak, légkondicionáló, fűtés közvetlen közelében ne inkubáljunk!) A csövek közötti hőmérsékletkülönbség komoly mérési hibákhoz vezethet.

4) **Figyelem, hibaforrás!** Ha nem leöntéssel, hanem leszívással történik a reakció befejezése, ezt követően ajánlott egy mosási lépést végezni (2 ml fiziológiás só oldattal) az

esetleges egyenetlen leszívásból eredő szórás elkerülése érdekében.

Egyéb tudnivalók

Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó nem-konjugált Ösztriol készletének komponenseivel.

Biztonsági óvrendszabályok

Radioaktivitás









A készlet radioaktív anyagot tartalmaz. A felhasználó laboratóriumok felelőssége, hogy munkájuk során ill. a védőcsomagolás esetleges sérülése esetén a radioaktív anyagok tárolására, felhasználására, és kezelésére vonatkozó törvényi szabályozás és hatósági előírások szerint járjanak el.

Fertőzésveszély

A készletben lévő humán szérumból tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérumból HIV-Ab és HBsAg vizsgálatra negatív eredményt adott. Ennek ellenére a humán szérumból tartalmazó komponenseket potenciálisan fertőzőként kell kezelni, és az erre vonatkozó általános laboratóriumi higiénés szabályokat be kell tartani.

Mérgező anyagok

A készlet komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma 115 mg. A nátrium-azid nemcsak mérgező anyag, de belőle rézzel, vagy ólommal érintkezve robbanásveszélyes azidok is keletkezhetnek. A mérgező és a laboratóriumi munkák általános biztonsági előírásainak betartásával kerülhető el. A nehézfém-azidok keletkezésének megakadályozására a nem-radioaktív hulladék reagenset nagy mennyiségű vízzel öblítve juttassuk a csatornahálózatba.

	Lejárati idő	LOT	Gyártási szám
	2-8°C-on tárolandó	CONTROL	Kontrol
	Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok	CAL	Standard
	Biológiai veszély	CT	Bevont Cso
	Lásd használati utasítás	TRAC	Tracer
	In vitro diagnosztikai eszköz	AS	Antisérumból
	Gyártó		Radioaktív anyag
REF	Katalógus szám		



WEB oldal: <http://www.izotop.hu>
Technikai e-mail: immuno@izotop.hu
Kereskedelmi e-mail: commerce@izotop.hu

IZOTOP

IZOTÓP INTÉZET Kft.
1535 Budapest, Pf.: 851.
Tel.: 392-2577, Fax: 395-9247