

НАБОР ГСПГ [¹²⁵I] IRMA

(Номер по каталогу: RK-86СТ)

Система ГСПГ [¹²⁵I] IRMA позволяет проводить прямое количественное глобулина, связывающего половые гормоны (ГСПГ) в сыворотке крови человека. Количественное определение ГСПГ может проводиться в диапазоне 0-250 нмоль/л, при этом используются образцы сыворотки объемом 10 мкл. Каждый набор содержит количество материалов достаточное для анализа 100 пробирок, позволяя составить одну стандартную кривую и проанализировать 42 неизвестных образца в двух экземплярах.

Введение

Глобулин, связывающий половые гормоны (ГСПГ), также известный как глобулин, связывающий тестостерон-эстрадиол, представляет собой гликопротеин с молекулярной массой около 86000. Предполагается, что он синтезируется в печени. Его биологическая функция заключается в транспорте половых гормонов. Он имеет высокую аффинность в тестостерону, дигидротестостерону и эстрадиолу.

При рождении уровень ГСПГ в крови относительно низкий, в детском возрасте концентрация значительно возрастает, а затем в пубертатном возрасте снижается. Наиболее высокий уровень ГСПГ наблюдается во время беременности и непосредственно перед родами. Повышение уровня ГСПГ отмечается при ряде патологических состояний, таких как ожирение, гиперандрогенизм у женщин (включая поликистоз яичников). Концентрация ГСПГ обратно пропорциональна уровню свободного активного тестостерона. «Индекс свободного тестостерона» представляет собой отношение общего тестостерона к ГСПГ.

Принцип метода

Сигнальное антитело, меченое ¹²⁵I, связывается с эпитопом молекулы ГСПГ, которая отличается от молекулы, которая распознается биотин-захватывающим антителом. Два антитела одновременно реагируют с антигеном, который присутствует в стандарте или в образце, что приводит к образованию комплекса иммобилизованное антитело – антиген – сигнальное антитело, также известного как «сэндвич».

В течение 2-часового периода инкубации иммуно-комплекс иммобилизуется на реактивной поверхности пробирок, покрытых стрептавидином. Затем реакционную смесь извлекают, пробирки тщательно промывают и производят замер их радиоактивности в гамма-счетчике. Концентрация антигена прямо пропорциональна радиоактивности,

измеренной в пробирках. Путем построения калибровочной кривой, в которой отражаются полученные значения в сравнении с серией калибраторов, содержащих известное количество ГСПГ, может быть определена искомая концентрация ГСПГ в образцах пациента.

Содержание набора

- 1 флакон МЕТКИ, 32 мл, готовой к использованию, содержащей <740 кБк ¹²⁵I-анти-ГСПГ и иммобилизованные анти-ГСПГ в буфере, содержащем протеины, 0.1 % NaN₃.
- 6 флаконов СТАНДАРТОВ, (S0-S5) готовых к использованию. 0,5 мл на флакон, в сыворотке с 0.1% NaN₃. Концентрация 0, 5, 15, 40, 100, 250 нмоль/л.
- 1 флакон КОНТРОЛЬНОЙ СЫВОРОТКИ Лиофилированная сыворотка крови человека 0,5 мл с 0,1% NaN₃. Концентрация контрольной сыворотки указана в прилагаемом сертификате качества.
- ПРОБИРКИ С ПОКРЫТИЕМ, готовые к использованию пластиковые пробирки, покрытые стрептавидином 2x50 шт
- 1 флакон КОНЦЕНТРАТА ПРОМЫВОЧНОГО БУФЕРА, 20 мл с 0.2% NaN₃. Перед использованием разбавить 700 мл дистиллированной воды. Сертификат качества Листок-вкладыш

Необходимые материалы, инструменты и оборудование

Штатив для пробирок, высокоточные автоматические пипетки со сменными наконечниками (10 мкл, 300 мкл и 2 мл), шейкер, полимерная пленка абсорбирующая ткань, гамма-счетчик.

Рекомендуемые инструменты и оборудование

автоматические пипетки (напр., Eppendorf и др.), диспенсер с резервуаром (вместо 2 мл пипетки)

Сбор и хранение образцов

Образцы сыворотки могут быть подготовлены в соответствии с общей процедурой, которая обычно используется в клинической лабораторной практике. Образцы могут храниться при температуре 2-8 °С, если исследование проводится в течение 48 часов, иначе аликвоты следует готовить и хранить в условиях глубокой заморозки (- 20 °С). Хранить образцы сыворотки не более 4 месяцев. Запрещается использовать липемичные, гемолизированные и мутные образцы. Перед анализом замороженные образцы следует разморозить и тщательно перемешать. Следует избегать повторного замораживания/оттаивания.

Приготовление и хранение реактивов

После вскрытия хранить реактивы при температуре от 2-8 °С. При такой температуре каждый реактив стабилен до

окончания срока годности. Фактический срок годности указан на этикетке упаковки и в сертификате качества.

Добавьте к лиофилированной контрольной сыворотке 0,5 мл дистиллированной воды Аккуратно перемешайте встряхиванием или взбалтыванием (следует избегать образования пены). Убедитесь, что достигнуто полное растворение и дайте раствору уравновеситься при комнатной температуре в течение 20 минут. Для получения 720 мл промывочного раствора добавьте 20 мл концентрата промывочного буфера к 700 мл дистиллированной воды. Приготовленный раствор хранить при температуре 2-8°С до окончания срока годности набора.

ВНИМАНИЕ!

Уравновесьте все реактивы и образцы сыворотки до комнатной температуры. Тщательно смешайте все реактивы и образцы перед использованием. Избегайте чрезмерного пенообразования.

Процедура количественного определения*(Краткое описание)*

1. Промаркируйте два экземпляра пробирок с покрытием для каждого из стандартов (S0-S5), контрольной сыворотки (С) и образцов (Р). Для общего количества (Т) возможно промаркировать дополнительно 2 пробирки.
2. Внесите пипеткой по 10 мкл стандартов (S0-S5), контроля (С) и образцов (Р) в соответствующим образом промаркированные пробирки.
3. С помощью пипетки поместите в каждую из пробирок 300 мкл метки.
4. Аккуратно перемешайте все пробирки. Закройте все пробирки полиэтиленовой пленкой. Если были подготовлены дополнительные пробирки Т поместите их отдельно.
5. Установите штатив с пробирками на подставку шейкера. Включите шейкер и установите адекватную скорость, такую, чтобы жидкость постоянно вращалась и перемешивалась в каждой пробирке. Инкубируйте пробирки в течение 2 часов в комнатной температуре. *(Примечание: эффективное вращение является основным фактором для достижения хорошей производительности. Неравномерное или неполное встряхивание может привести к серьезной ошибке. Никогда не используйте штатив с открытым отверстием.)*
6. Добавьте в каждую пробирку по 2.0 мл разбавленного промывочного буфера. Слейте супернатант из всех пробирок путем переворачивания штатива. Поместите штатив в перевернутом состоянии на 2 минуты на фильтровальную бумагу.
7. Повторите этап 6.

8. Определите радиоактивность каждой пробирки, поместив ее в гамма-счетчик как минимум на 60 секунд.

S3	27332 27780	27556	9.228	
S4	61341 62452	61896	20.73	
S5	126134 127507	126820	42.47	
C	29164 29522	29343		42.85

Расчет результатов

Рассчитайте среднее значение в минуту (СРМ) для каждой пары исследуемых пробирок.

Используя полулогарифмическую миллиметровую бумагу, постройте калибровочную кривую, отмечая значение СРМ для каждого стандарта (ордината) относительно соответствующей концентрации, за исключением 0 стандарта (абсцисса).

Определите концентрацию в неизвестном образце методом интерполяции по калибровочной кривой.

При автоматизированном расчете и/или оценке качества чаще используется нормализованное процентное связывание чем СРМ.

Нормализованное процентное связывание может быть рассчитано для каждого из стандарта и образца по следующей формуле:

$$B/T\% = \frac{S1-S5, C, P(\text{cpm}) - S0(\text{cpm})}{T(\text{cpm})} \times 100$$

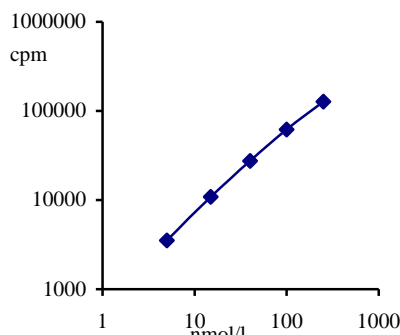
Протокол количественного определения, методика введения (все объемы указаны в микролитрах)

	T	S0-S5	C	P
Стандарт		10		
Контроль			10	
Образец				10
Метка	300	300	300	300
Перемешивать в течение 2 часов при комнатной температуре				
Промывочный буфер		2000	2000	2000
Удалить жидкость и поставить перевернутую пробирку на фильтровальную бумагу				
Промывочный буфер		2000	2000	2000
Удалить жидкость и поставить перевернутую пробирку на фильтровальную бумагу				
Промывочный буфер		2000	2000	2000
Удалить жидкость и поставить перевернутую пробирку на фильтровальную бумагу				
Измерьте уровень радиоактивности (60 сек/пробирка)				
Рассчитайте результаты				

Типичные данные количественного определения

Пробирки	Количество cpm	Среднее значение cpm	Во/Т %	нмоль/л
T	303150 294072	298611		
S0	45 40	42	0.014	
S1	3563 3489	3526	1.181	
S2	10799 10842	10821	3.624	

Типичная калибровочная кривая)



Характеристика количественного определения

Калибровка

Стандарты откалиброваны согласно стандарту ВОЗ, код 95/560.

Параметры количественного определения

NSB/T < 0,05 %

Vmax/T > 35%

Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность составляет 0.11 нмоль/л.

Она определяется как концентрация ГСПГ, эквивалентная среднему значению СРМ для 20 копий нулевого стандарта.

Функциональная чувствительность

Значение функциональной чувствительности составляет 0.22 нмоль/л.

Данный параметр определяется как значение, экстраполированное к 20% неточного профиля между количественными определениями, полученного при 10 независимых сериях образцов с низкой концентрацией эндогенного ГСПГ.

Эффект крючка

При концентрациях ГСПГ до 835 нмоль/л высокодозный «эффект крючка» отсутствует.

Специфичность

Перекрестная реактивность антисыворотки ГСПГ определялась в сравнении с человеческим IgG (10 г/л) и человеческим альбумином (50 г/л). В обоих случаях перекрестная реактивность не была выявлена.

Точность и воспроизводимость

Было проведено исследование образцов в 20 повторах в 1 серии и дважды в 12 сериях для определения точности в ходе количественного определения и между количественными определениями соответственно. Ниже представлены полученные значения:

В ходе количественного определения		Между количественными определениями	
Среднее значение нмоль/л	CV %	Среднее значение нмоль/л	CV %
3.11	5.42	0.91	4.97
7.48	5.42	3.11	4.10
28.47	4.99	6.62	3.35
77.20	4.91	26.83	6.04
129.32	7.00	43.33	4.14
207.39	8.58	72.47	3.83
		123.80	3.16
		192.79	4.56

Восстановление

Под восстановлением понималось зафиксированное увеличение, выраженное в процентах от ожидаемого роста пиков в образцах сыворотки крови с известным количеством ГСПГ. Для 8 образцов сыворотки крови с ГСПГ было получено следующее значение на 3 уровнях: $94.52 \pm 5.21\%$.

Тест разведения

Исследование 4 образцов проводилось в серии разведений (2, 4, 8, 16-кратное) с нулевым стандартом. Приведенная ниже формула, полученная для измеренной (Y) концентрации в сравнении с ожидаемой (X), указывает на хорошую линейность:

$$y = 0.9301x - 0.5552, R = 0.9962, n = 16$$

Ожидаемые значения

Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория устанавливала собственные диапазоны эталонных значений.

В образцах крови, полученных от **взрослых доноров женского пола** (n=134), средняя (\pm CO) концентрация ГСПГ в сыворотке составила 85 ± 65 (диапазон 10–330) нмоль/л.

В образцах крови, полученных от **взрослых доноров мужского пола** (n=139), средняя (\pm CO) концентрация ГСПГ в сыворотке составила 32 ± 12 (диапазон 7.7–81) нмоль/л.

Полученные результаты следует интерпретировать только в контексте общей клинической картины.

Ни один из наборов для диагностики *in vitro* не может быть использован в качестве единственного доказательства наличия какого-либо заболевания или нарушения.

Дополнительная информация

Не следует смешивать или заменять компоненты из различных партий или наборов разных производителей.

Меры предосторожности

Радиоактивность

Данный продукт содержит радиоактивный материал. Пользователь несет ответственность за соблюдение местных законов или правил, касающихся порядка использования радиоактивных материалов.














Биологическая опасность

Продукты человеческой крови, использованные в наборе, были получены у здоровых доноров. Они были протестированы индивидуально с использованием утвержденных методов (иммуоферментный анализ). В результате проверки были получены отрицательные результаты на наличие антител к вирусу иммунодефицита человека (анти-ВИЧ-1) и поверхностных антигенов вируса гепатита В (HBsAg).

Следует всегда соблюдать осторожность при работе с человеческими образцами, предназначенными для тестирования диагностическими наборами. Даже если образец был протестирован, ни один метод не может гарантировать полного отсутствия вируса гепатита В, вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-1) или других инфекционных агентов. Следовательно, с образцами крови человека следует обращаться как с *потенциально инфекционно опасным материалом*.

Химическая опасность

В качестве антибактериального агента компоненты содержат азид натрия. При утилизации отходы следует смывать большим количеством воды, чтобы предотвратить накопление взрывоопасных азидов металлов в системе водопровода, который может содержать части из меди и свинца. Содержание азидов в каждой упаковке составляет 75 мг.

	Температурный предел		Контроль
	Внимание, обратитесь к сопроводительным документам		Стандарт
	Биологическая опасность		Пробирка с покрытием
	См. руководство по использованию		Метка
	Устройство для проведения диагностики <i>in vitro</i>		Промывочный буфер
	Производитель		
	Номер по каталогу		
	Радиоактивный материал		

Сайт: <http://www.izotop.hu>

Технический

immuno@izotop.hu

Коммерческий

commerce@izotop.hu



e-mail:

e-mail:



INSTITUTE OF ISOTOPES CO. LTD.
H-1121 Budapest, Konkoly-Thege
Miklós út 29-33
Тел.: (36-1)392-2577,
Факс: (36-1)395-9247
01439



Использовано



Код партии