

125
hPRL [¹²⁵I] IRMA készlet
(REF: RK-780CT)

A hPRL [¹²⁵I] IRMA készlet humán szérumból proaktin (PRL) tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0 - 160 ng/mL mérési tartományban.

Bevezetés

A hPRL (human proaktin) kb. 22000-es molekulatömegű polipeptid hormon, amelyet az agyalapi mirigy sejteji választanak ki.

A hPRL a tejtermelődést szabályozza.

Képződését és kiválasztását pontosan még nem azonosított faktorok (többek között dopamin, serotonin) befolyásolják. Kimutatták a TRH stimuláló hatását a hPRL kiválasztásra. Proaktin termelést csökkentő hatása van a PIF faktornak.

A hyperproaktinémia kialakulásának élettani és kórtani okai egyaránt vannak.

Infertilitás esetén a hPRL koncentráció mérése javasolt.

A hipotalamusz - hipofízis - gonad szabályozórendszer zavarainak vizsgálatában a szérumból hPRL koncentrációjának mérése fontos információkkal szolgál.

A mérés elve

A mérőkészlet a szilárd fázisú immunoradiometrikus assay (IRMA) működési elvét alkalmazza. Ehhez két olyan monoklonális antitest szükséges, amelyek a molekula két különböző epitopját ismerik fel. A két antitest egyike radiojóddal jelzett (jelző antitest), a másikuk jelöletlen (ún. "capture" antitest).

A bevont csöves rendszerek jelen változatában az antigénnek a két antitesttel kialakult immunkomplexe ("szendvics") reaktív kémcső felületén mint szilárd fázison kötődik meg. 1 órási reakcióidőt követően a reakcióelegyet a kémcsőből kiöntjük, és pufferes mosás után gamma-számlálóval mérjük a radioaktivitást. A kémcsővekben mért radioaktivitás egyenesen arányos a rendszerben lévő hormon koncentrációjával. Az ismert koncentrációjú standardok kötési értékei alapján szerkesztett kalibrációs görbéről az ismeretlen minták koncentrációit kötési értékeik alapján visszaolvassuk.

A készlet tartalma

- 1 flakon ¹²⁵I-TRACER (21 mL), pufferes oldat radioaktivitása <740kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.
- 6 üveg STANDARD (6 x 1 mL), liofilizált, marhaszérumból és 0,1 % Kathon CG-1 tartalmaz. Koncentrációját a címke és a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.
- 1 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM, (1 mL) liofilizált, humán szérumból és 0,1 % Kathon CG-1 tartalmaz. Koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.
- 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt műanyag dobozban

5. MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM, (20 mL), 0,2 % nátrium-azid tartósítóval.

1 db Minőségellenőrzési bizonylat

1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcsőörögzőtő kiképzésben; pipetták (0,1, 0,2 és 2 mL térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel); rázógép; kémcsőszáró műanyag fólia; papírvatta vagy itatóspapír; gamma-számláló

Ajánlott:

Sorozat-adagoló (ismétlő) pipetta; folyadéküveges leosztó (diszpenzer), 1 literes folyadékedény, 2 mL adagolási térfogatra

A mérendő minták gyűjtése és tárolása

Amennyiben az PRL meghatározás a mintavételt követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat 2-8°C-on, későbbi felhasználás esetén -20°C-on mélyhűtve tartjuk. A fagyasztott mintákat hagyjuk felolvadni, és felhasználás előtt alaposan homogenizáljuk. Kerüljük az ismételt visszafagyasztást.

Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumból ne használjunk mérésre.

A reagensek előkészítése, tárolása

A mosóoldat koncentrátumot öntsük hozzá 700 mL desztillált vízhez. A hígított mosóoldatot 2-8°C -on tároljuk a készlet lejárataig.

A liofilizált standardokat és az ellenőrző szérumból feloldjuk 1 mL desztillált vízzel, örvénykeverővel homogenizáljuk, ügyelve a habzás elkerülésére. A rekonstituírt oldatokat 20 percig még ne használjuk fel. A rekonstituírt oldatokat -20°C-on 4 hónapig tárolhatók.

A készlet többi komponense az első felnyitást követően 2-8°C -on tárolható a készlet lejárati idején belül. A pontos lejárati idő a kísérő bizonylaton és a dobozcímkén van feltüntetve.

A meghatározás menete

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

1. Jelöljük meg két-két csövet: összes beütésszám (T), standard (S1-S6), ellenőrző szérumból (C); vizsgálandó minták (M).
2. Mérjük 100 µL STANDARDot, ill. ELLENŐRZŐ SZÉRUMOT, és szérumból mintát a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csőbe 200 µL TRACER oldatot.
4. Helyezzük a csöveket rögzítő kémcsőtartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 1 órán át szobahőmérsékleten.
5. Adjunk minden csőhöz 2 ml mosópuffert, majd a csőtartót fejfelé fordítva, egyetlen határozott,

gyors mozdulattal öntsük le a felülűszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.

6. Ismételjük meg a mosási lépést egyszer, az 5. pontnak megfelelően.
7. Mérjük meg a csövek radioaktivitását gamma-számlálóval és számítsuk ki az eredményeket az alábbiak szerint.

1. Táblázat Folyamatábra, pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

	T	S1-S6	C	M
Standard		100		
Ell. szérumból			100	
Minta				100
Tracer	200	200	200	200
Kevertetés, 1 óra szobahőmérsékleten				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Radioaktivitás mérés (min. 60 sec/cső)				
Adatfeldolgozás				

Az eredmények számítása

A számítás menetét jellemző mérési adatokkal szemléltetjük. A kapott számadatoknak, és a kalibrációs görbének hasonlítaniuk kell a 2. táblázathoz, illetve az 1. ábrához.

Számítsuk ki a párhuzamos csövek beütésszámainak középértékét.

Log-log papíron ábrázoljuk a standard koncentrációkhoz tartozó átlag cpm értékeket. Olvassuk le a mérendő minták koncentrációit a standard görbéről az átlag cpm értékek alapján.

Egyes adat-kiértékelésekhez, rendszerint minőségellenőrzési célból, szükség lehet a specifikus kötési értékekre. Erre a B/T értékek használhatók, amelyek számításához a standardok, illetve minták NSB-vel (azaz az S1 beütésszámával) korrigált értékeit osztjuk a totál aktivitással az alábbi egyenlet szerint:

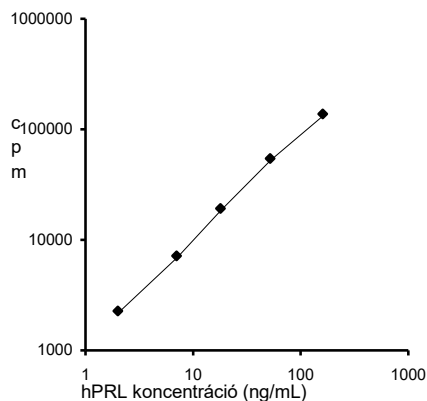
$$B/T (\%) = \frac{S2-6/Mx / (cpm) - S1(cpm)}{T (cpm)} \times 100$$

Egy jellegzetes mérési adatsort foglalj össze a 2. táblázat, míg az 1. ábra egy jellemző standard görbét mutat.

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("on-line") számítógépes adatfeldolgozást is. A sokféle feldolgozó program közül jelen készítményhez speciálisan immunometrikus assayre kifejlesztett spline illesztő program használatát javasoljuk. Ügyeljünk arra, hogy vannak olyan kiértékelő programok, amelyek a 0-standard és az első standard között is interpolálnak, de a számított koncentrációk közül csak azok tekinthetők valósak, amelyek értéke magasabb, mint a mérés statisztikailag meghatározott kimutatási határa (ld. érzékenység).

2. Táblázat Jellemző mérési eredmények

Csővek	Átlag cpm	B/T%
T	278224	
S1	59	0,02
S2	2277	0,82
S3	7169	2,58
S4	19278	6,96
S5	54597	19,7
S6	137653	49,7
C	7515	2,7



1. ábra

Tipikus standard görbe, (Mintameghatározásra nem használható!)

Minőségi jellemzők

Kalibráció

1 ng prolaktin standard 35 μ IU NIBSC 97/714 referencia preparátumnak felel meg.

Specifitás

A készletben alkalmazott monoklonális antitestekkel nem tapasztalható keresztreakció normál fiziológiás koncentrációban levő hGH, hPL hormonokkal.

Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 2500 ng/mL alatt nem jelentkezik. Bármely mintának, amelynek koncentrációja a 160-2500 ng/mL tartományba esik, ezzel a készlettel mérve, a koncentrációját több mint 160 ng/mL-nek fogjuk találni.

Érzékenység

Jelen készlettel az analitikai érzékenység a 0-standarddal 20 párhuzamos mérésből meghatározva 0,04 ng/mL. Értéke egyenlő a 0-standard B0+2*SD kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 20 párhuzamossal egy sorozaton belül, az inter-assay pontosságot 2 párhuzamossal, 18 független mérésben értékelve, 3 mintára az alábbi adatokat kaptuk.

Intra-assay		Inter-assay	
átlag (ng/mL)	CV %	átlag (ng/mL)	CV %
6,36	4,82	6,89	7,74
12,21	4,67	15,77	9,74
27,69	2,86	31,57	7,37

Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")

A mérés során 3 db egyedi humán szérumból mintába ismert mennyiségű hPRL-t vittünk be három különböző koncentrációban és vizsgáltuk a kiindulási és a megemelkedett koncentráció szinteket. A visszanyerés 97% és 107% között volt (átlag: 102,6%).

Hígítási teszt

Öt szérumminta nulla standard szérummal végzett sorozat-hígítások a várt (Y) és a mért (X) koncentrációértékek között az alábbi lineáris összefüggés adódott:

$Y = 1,0242X - 0,0724$ $R^2 = 0,9989$ $n = 20$
A hígítás utáni visszanyerés 98% és 108% között volt.

Várható referens tartomány

	Férfiak	Nők	Menopauza
Minták	113	147	94
Átlag	5,47	8,40	5,91
Medián	4,52	7,25	5,06
95% tartomány	2-14	3-20	2-15

A megadott referens tartomány csak tájékoztató adatnak tekintendő, és nem helyettesítheti a készletet felhasználó laboratóriumok saját területükre jellemző normálértékének megállapítását.

Megjegyzések, tanácsok

1) **Figyelem, hibaforrás!** A bevont kémcsövek nem tartalmaznak külön feliratot. Közöséges kémcsövekkel való összetévesztésük komoly mérési hibákhoz vezethet! Ennek elkerülésére a műanyag dobozból soha ne vegyünk ki többet a szükséges mennyiségnél, illetve a felhasználatlan kémcsöveket azonnal tegyük vissza eredeti tartódobzukba. Ha az összekeverés veszélye a feldolgozás alatt is fennáll, célszerű a bevont csöveket más módon is megjelölni (pl. üvegre író tollal "meggyűrűzni").

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

3) **A mosópuffer adagolása.** A mosópuffer legcélszerűbben hajlékony kivezető csővel felszerelt diszpenzerről adagolható, amelyhez legalább 1 literes folyadék-edény csatlakozik. A hajlékony csővéggel az asztalon fekvő kémcsőállvány fölött végighaladva a mosópuffer hozzáadása gyors és hibamentes. Diszpenzer hiányában kellően nagy térfogatú fecskendővel ellátott ismétlő pipetta használható.

Egyéb tudnivalók

Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó hPRL 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 szérumot tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérumból származó HIV-Ab és HBsAg vizsgálatra negatív eredményt adott. Ennek ellenére a humán szérumot tartalmazó komponenseket potenciálisan fertőzőként kell kezelni, és az erre vonatkozó általános laboratóriumi higiénés szabályokat be kell tartani.

A szarvasmarhából származó komponensek olyan országokból származnak, amelyekben szarvasos szarvasmarha agyvelőgyulladásos eseteket nem regisztráltak. Mindezek ellenére az állati eredetű komponenseket tartalmazó reagenst **potenciálisan fertőzőként kell kezelni!**

Mérgező anyagok

A készlet komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma **61 mg**. A nátrium-azid nemcsak mérgező anyag, de belőle rézzel, vagy ólommal érintkezve robbanásveszélyes azidok is keletkezhetnek. A mérgezés a laboratóriumi munkák általános biztonsági előírásainak betartásával kerülhető el. A nehézfém-azidok keletkezésének megakadályozására a nem-radioaktív hulladék reagenst nagy mennyiségű vízzel öblítve juttassuk a csatornahálózatba.

	Lejárat idő	CONTROL	Kontrol
	Gyártási szám	CAL	Standard
	Vigyzat, lásd kapcsolódó dokumentumok	CT	Bevont cső
	Biológiai veszély	TRAC	Tracer
	Lásd használati utasítás	WASHB	Mosópuffer
	In vitro diagnosztikai eszköz		2-8°C-on tárolandó
	Gyártó		Radioaktív anyag
REF	Katalógus szám		

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

IZOTOP

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

Aktualizálva: 2018. szeptember

