

SHBG [¹²⁵I] IRMA készlet (REF: RK-86CT)

A SHBG IRMA [¹²⁵I] készlet humán szérumban, SHBG tartalmának direkt meghatározására szolgál. A készlet 100 meghatározásra elegendő reagenst tartalmaz, amellyel két párhuzamos mérés esetén 42 minta SHBG koncentrációja határozható meg 0-250 nmol/l méréstartományban.

Bevezetés

A szexhormon-kötőfehérje (SHBG), melyet tesztoszteron-ösztadiol-kötőfehérjének (TeBG) vagy szteroid-kötőfehérjének is neveznek egy a májban szintetizált fehérjék közül. Molekulasúlya mintegy 86000, elsődleges szerepe a tesztoszteron és ösztadiol szállítása. Bár az említett két szteroid kis affinitással albuminhoz is kötődik, az SHBG-hez nem kötött tesztoszteron meghatározása klinikailag jól használható információt szolgáltat nők hyper androgén szindrómájának megítéléséhez, mely pl. hirsutizmushoz vezethet. Az SHBG-hez nem kötött tesztoszteron számszerűsítésére a klinikumban jól bevált szabad androgén index használható, mely a tesztoszteron/SHBG hányados százszorosa.

A mérés elve

A készlet működése a szilárd fázisú immunoradiometrikus assay (IRMA) elvén alapul. Ehhez két olyan monoklonális antitest szükséges, amelyek a molekula két különböző epitópját 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”) a reaktív kémcső felületén, mint szilárd fázison kötődik meg. 2 órás reakcióidőt követően a reakcióelegyet a kémcsőből kiöntjük, és pufferes mosás után gamma-számlálóval mérjük a radioaktivitást. A szilárd fázison mért radioaktivitás egyenesen arányos a rendszerben lévő SHBG 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, felhasználásra kész.

32 ml pufferes oldat, piros színezékkel, 0,1 % nátrium-azid tartósítóval.
Radioaktivitása < 740 kBq,

2. 6 üveg

STANDARD(S0-S5), felhasználásra kész, 0,5ml humán szérumban, 0,1 % nátrium-azid tartósítóval.

Koncentrációjuk 0, 5, 15, 40, 100, 250 nmol/l
Kalibrálva a 95/560 WHO standardra.

3. 1 üveg

ELLENŐRZŐ SZÉRUM, liofilizált.

Humán szérumban, 0,1 % nátrium-azid tartósítóval.

Rekonstituálendő 0,5 ml desztillált vízzel. Várható értékeiket a minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

4. 2 doboz BEVONT CSŐ.

2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt műanyag dobozban

5. 1 flakon

MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM.

20 ml, 0,2 % nátrium-azid tartósítóval.

700 ml desztillált vízzel hígítandó.

1 db Minőségellenőrzési bizonylat

1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcsőörögzőtő kiképzésben, 10 µl-es precíziós mikropipetta, 300 µl-es és 2 ml-es ismétlő pipetta, örvénykeverő (vortex), orbitális keverő, papírvatta, vagy itatósz papír, gamma-számláló.

Ajánlott: folyadéküveges leosztó (diszpenzer), 1 literes folyadék-edénnyel, 2 ml adagolási térfogatra (ekkor a 2 ml-es ismétlő pipettára nincs szükség)

A mérendő minták gyűjtése és tárolása

A vizsgálandó szérumbmintákat a más, ugyancsak szérumbot igénylő laboratóriumi vizsgálatoknál követően módon készítjük el. Amennyiben a SHBG-meghatározás a mintavételt követő 1 napon belül megtörténik, a mintákat +2 - +8 °C-on, későbbi felhasználás esetén -18 °C-on mélyhűtve tartjuk. Kerüljük az ismételt visszafagyasztást.

Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumbot ne használjunk mérésre. A legmagasabb standard értéknél magasabb koncentrációjú minták analizését hígítás után ismételt mérjük meg. Hígításhoz a nulla standard (S0) használható fel. Ajánlott hígítás: 40 µl S0, 40 µl minta. A mintát adjuk a S0-ra, majd háromszor szívjuk fel és nyomjuk ki a kapott oldatot a pipettahegyből.

A reagensek előkészítése, tárolás

A készlet komponensei 2-8 °C között tárolhatók a lejáratú időn belül.

Adjunk a *lioofilizált ellenőrző szérumbhoz* 0,5 ml desztillált vizet, és homogenizáljuk örvénykeverővel. Ügyeljünk a habzás elkerülésére. A rekonstituált oldatot legalább 20 percig még ne használjuk fel.

Az ellenőrző szérumbot 2-8 °C-on eltartható a készlet lejáratú idejéig, későbbi felhasználás esetén -18 °C-on mélyhűtve tároljuk.

A *mosópuffer koncentrátumot* öntsük 700 ml desztillált vízhez. A kész oldat 2-8 °C-on a készlet lejáratú idejéig tárolható.

FIGYELEM!

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

A meghatározás menete

Folyamatábra

- Jelöljük meg két-két csövet az alábbi célra:
 - összes beütésszám (T)
 - standard (S0-S5)(S0=NSB)
 - ellenőrző szérumbot (C)
 - vizsgálandó minták (M_x)
- Mérjük **10 µl** Standardot (S0-S5), illetve Ellenőrző szérumbot (C), és szérumbmintát (M_x) a megfelelő csövekbe.
- Mérjük minden csőbe **300 µl** Tracer oldatot.
- Örvénykeverővel homogenizáljuk a csövek tartalmát, kivéve a T jelű csöveket.
Ha inkubáláshoz orbitális keverőt használunk, a kémcsövek egyedi keverésére nincs szükség. A csöveket – a T jelű csövek kivételével - helyezzük olyan állványba, mely biztosan rögzíti azokat, majd fedjük le őket zárófoliával. Rögzítsük az állványt a rázógépre.
- Indítsuk el a rázógépet, és állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi csőben mozgásban legyen. Ezzel a kevertetéssel inkubáljuk a csöveket 2 órán keresztül szobahőmérsékleten.
- Adjunk minden csőhöz 2 ml mosópuffert, majd a csöveket az állvánnyal együtt fejfelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülűszót. A tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig. Győződjünk meg arról, hogy a csövek peremén nem maradtak folyadék-cseppek, majd fordítsuk vissza a szeparáló állványt.
- Ismételjük meg a 6. lépést.
- Mérjük meg az egyes csövek radioaktivitását gamma-számlálóval, legalább 60 másodperc számlálási idővel.

Az eredmények számítása

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 szükség lehet a specifikus kötési értékekre. Erre a B/T értékek használhatók, amelyek számításához a standardok, illetve minták NSB-vel (azaz az S0 beütésszámával) korrigált értékeit osztjuk a totál aktivitással az alábbi egyenlet szerint:

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

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("on-line") számítógépes adatfeldolgozást is. A sokféle feldolgozó program közül jelen kézikönyvhez a simított spline eljárást ajánljuk. 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 valósnak, amelyek értéke magasabb, mint a mérés statisztikailag meghatározott kimutatási határa.

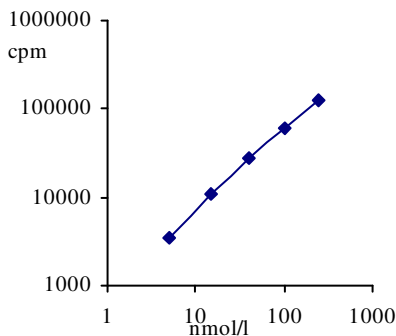
Folyamatábra, pipettázási kalauz
(térfogatok mikroliterben)

	T	S0-S5	C	M
Standard		10		
Ell. szérum			10	
Minta				10
Tracer	300	300	300	300
Kevertetés 2 órán át szobahőmérsékleten				
Mosópuffer	2000	2000	2000	
Folyadék leöntése, szárítás itatós papíron				
Mosópuffer	2000	2000	2000	
Folyadék leöntése, szárítás itatós papíron				
Radoaktivitás mérés (min. 60 sec/cső)				
Adatfeldolgozás				

Jellemző mérési eredmények

Cső	Beütés cpm	Átlag cpm	Bo/T %	nmol/l
T	303150 294072	298611		
S0	45 40	42	0.014	
S1	3563 3489	3526	1.181	
S2	10799 10842	10821	3.624	
S3	27332 27780	27556	9.228	
S4	61341 62452	61896	20.73	
S5	126134 127507	126820	42.47	
C	29164 29522	29343		42.85

Jellemző standard görbe



Minőségi jellemzők

A minőségi jellemzőket 0-5 napos tracerrel, 2 mosással nyertük .

Az assay jellemző paraméterei

NSB/T <0,05%

Bmax/T>35%

Aalitkai érzékenység

Jelen készlettel az analitikai érzékenység a 0-standarddal 20 párhuzamos mérésből meghatározva 0,11 nmol/l . Értéke egyenlő a 0-standard Bo+2*SD kötési értékéhez tartozó koncentrációval, mely értéket S0 és S1 közt lineáris interpolációval számoltuk.

Funkcionális érzékenység

A funkcionális érzékenységet alacsony koncentrációjú minták inter-assay CV profil méréséből határoztuk meg 10 assayból , spline görbeillesztési eljárást alkalmazva, a 0,097 és 0,269 nmol/l koncentrációjú minta közt lineáris interpolációt végezve, a 20 % CV-hez tartozó koncentrációra 0,22 nmol/l-t kaptunk.

Nagy-dózisú Hook effektus

Hígítás nélküli mintákra 835 nmol/l-ig Hook effektust nem tapasztaltunk.

Specifititás

Humán IgG – 10 g/l és humán szérum albumin – 50 g/l koncentrációig mérhető keresztreakció nem ad.

Ismert mennyiség visszanyerése

8 egyéni szérummintákhoz 3 szinten ismert mennyiségű SHBG-et adva, a visszanyerés átlaga 94,52% volt, melynek szórása 5,21%.

Hígítási teszt (linearity)

4 egyéni szérumminta nulla standarddal végzett sorozat-hígításakor (hígítás 2, 4, 8, 16) a várt (x) és a mért (y) koncentráció érték között az alábbi lineáris összefüggés adódott: $y = 0,9301x - 0,5552$, $R = 0,9962$, $n = 16$.

Pontosság és reprodukálhatóság

Az intra-assay pontosságot 20 párhuzamossal egy sorozaton belül, az inter-assay pontosságot 2 párhuzamossal, 12 független mérésben értékelve, 7 mintára az alábbi adatokat kaptuk

Intra-assay		Inter-assay	
átlag (nmol/l)	CV %	átlag (nmol/l)	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

Várható referens tartomány

134 önkéntes véradó nő mintájának SHBG koncentrációját mérve a statisztikai adatok: átlag 85 nmol/l, SD 65, minimum 10 nmol/l, maximum 330 nmol/l.

139 önkéntes véradó férfi mintájának SHBG koncentrációját mérve a statisztikai adatok: átlag 32 nmol/l, SD 12, minimum 7,7 nmol/l, maximum 81 nmol/l.

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

Egyéb tudnivalók

A reagensek a gyártástól számítva általában legalább 8 hétig felhasználhatók. A pontos lejáratú idő a kísérő bizonylaton és a dobozcímkén van feltüntetve.

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

Megjegyzések, tanácsok

Figyelem, hibaforrás! A bevont kémcsövek nem tartalmaznak külön felíratot. 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 tartódobozukba.

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 szérum 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.

Mérgező anyagok

A készlet komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma 75mg. 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 reagenseket nagy mennyiségű vízzel öblítve juttassuk a csatornahálózatba.

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



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

01440