

# Spectria®

## PROGESTERONE RIA

Radioimunoanalytické stanovení, zkumavky s navázanou  
protilátkou  
Kat.č. 06196

Leden 2009

### Návod k použití soupravy

Určený účel použití	3
Klinický význam progesteronu	3
Princip testu	3
Reagencie	4
Přístroje	6
Manipulace se vzorkem; skladování vzorku	6
Pracovní postup	7
Omezení metody	8
Zajištění jakosti	8
Výpočet výsledků	9
Referenční intervaly	10
Analytické parametry měření	11
Literatura (viz originální příbalová informace)	



Výrobce:  
Orion Diagnostica Oy  
P.O. Box 83, FI-02101 Espoo, Finland  
Tel. +358 10 4261  
Fax +358 10 426 7546  
www.oriondiagnostica.fi



## Vysvětlení symbolů použitých na štítcích

Diagnostický zdravotnický prostředek *in vitro*



Katalogové číslo



Číslo šarže



Použitelné do



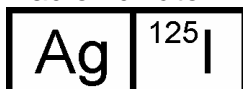
Teplotní rozmezí



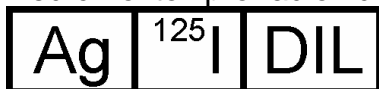
Viz návod k použití



Radioindikátor



Ředící roztok pro radioindikátor



Koncentrace kalibrátoru



Obsahuje azid sodný



## **URČENÝ ÚČEL POUŽITÍ**

Souprava SPECTRIA Progesteron RIA firmy Orion Diagnostica, využívající techniky zkumavek potažených protilátkou, je určena pro kvantitativní radioimunoanalytické *in vitro* měření koncentrace progesteronu v lidském séru.

## **KLINICKÝ VÝZNAM PROGESTERONU**

Progesteron je steroidní hormon sekretovaný žlutým tělískem ženského vaječníku během normálního menstruačního cyklu. Nejvyšších hodnot dosahuje asi po týdnu od ovulace. Během těhotenství je progesteron syntetizován prvních 9 týdnů hlavně ve žlutém tělísku a potom v placentě. Malé množství progesteronu je také syntetizováno ve varlatech a u obou pohlaví také kůrou nadledvinek. Většina progesteronu je vázána na transportní protein (kortikosteroid vázající protein nebo albumin) a jen malé množství cirkuluje volně jako aktivní hormon.

Stanovení progesteronu se většinou používá v diagnóze suspektní anovulace a nedostatečnosti žlutého tělíska. U neovulačních cyklů chybí žluté tělísko, a proto nedojde ke zvýšení hladin progesteronu v séru v druhé polovině menstruačního cyklu. V případě nedostatečnosti žlutého tělíska, ovulace se objevuje, ale produkce progesteronu je snížena. To je spojeno s neúplným vývojem endometria, čímž se ztěžuje implantace oplodněného vajíčka. Progesteron ochraňuje těhotenství snížením děložní kontraktibility. Zdá se, že progesteron je použitelný také pro hromadná vyšetřování při podezření na mimoděložní těhotenství.

## **PRINCIP TESTU**

Spectria Progesteron test je založen na technice kompetitivní radioimunoanalýzy. Známé množství značeného progesteronu a neznámé množství neznačeného antigenu soutěží o omezený počet vysoce afinitních vazebných míst protilátky. Po separaci volného antigenu je množství značeného progesteronu ve zkumavce nepřímo úměrné množství progesteronu ve vzorku. Koncentrace v neznámých vzorcích se odečtou z kalibrační křivky.

## REAGENCIE

### Materiály dodávané v soupravě

REAGENCIE	MNOŽSTVÍ	SKLADOVÁNÍ
<b>PROGESTERONE COATED TUBES:</b> <b>Zkumavky s navázanou protilátkou proti progesteronu:</b> Geometricky optimalizované testovací zkumavky potažené polyklonální králičí protilátkou proti progesteronu.	100 ks v plastové krabičce	Při 2 - 8°C v původním obalu do data expirace. <i>K analýze vezměte pouze nezbytně nutné množství zkumavek. Krabičku skladujte v uzavíracím plastovém sáčku společně se silika gelem.</i>
<b>PROGESTERONE TRACER:</b> <b>Radioindikátor:</b> 5x koncentrovaný roztok [ <sup>125</sup> I]-značeného progesteronu. Kathon, červené barvivo	1 lahvička 11 ml  Radioaktivita < 150 kBq	Při teplotě 2 – 8°C do data expirace.
<b>PROGESTERONE TRACER DILUENT</b> <b>Ředící roztok pro radioindikátor:</b> Fosfátový tlumivý roztok je připraven k použití. Kathon, červené barvivo	1 lahvička 45 ml	Při teplotě 2 – 8°C do data expirace.
<b>PROGESTERONE CALIBRATORS:</b> <b>Kalibrátory progesteronu:</b> Připraveny k použití. Koncentrace progesteronu 0, 0.8, 4.0, 10, 40 a 100 nmol/l v lidském séru. Kathon, NaN <sub>3</sub> . <i>Kalibrováno proti internímu master kalibrátoru.</i>	6 lahviček 1 ml	Při teplotě 2 – 8°C do data expirace.

Reagencie obsahují azid sodný, čtěte *Upozornění a varování*.

## **Upozornění a varování**

**VAROVÁNÍ 1: Pro diagnostické použití *in vitro*** Není určeno pro interní nebo externí použití u lidí nebo u zvířat. Používejte pouze součásti jedné soupravy. Nemíchejte zkumavky s navázanou protilátkou z různých souprav (krabic). Reagencie nepoužívejte po expirační době soupravy. Nepipetujte ústy. Při práci s radioaktivním materiálem je zakázáno jíst, pít nebo kouřit. Používejte jednorázové rukavice a vhodný ochranný oděv. Zabraňte kontaktu s kůží a očima. Po skočení práce s těmito látkami si důkladně umyjte ruce. Ukápnutý materiál je nutno okamžitě omýt velkým množstvím vody. Materiály použité k čištění by měly být likvidovány dle předpisů.

**VAROVÁNÍ 2:** Souprava obsahuje  $^{125}\text{I}$  (poločas rozpadu  $T_{1/2}$  60 dní) emitující 35,5 keV gama záření a 27 - 32 keV rentgenového záření. **Radioaktivní materiál** mohou přijímat, skladovat a používat pouze pracoviště, která splňují ustanovení zákona 18/1997 Sb. v platném znění a příslušných vyhlášek Ministerstva zdravotnictví.

Při práci s radioaktivním materiálem dodržujte následující pravidla:

- všechny radioaktivní materiály skladujte v původním balení a jen na místech k tomu určených, s radioaktivním materiálem pracujte pouze ve schválených prostorách
- příjem a spotřebu radioaktivních látek evidujte
- povrch pracovních stolů, který by mohl být kontaminován, pravidelně kontrolujte
- ukápnutý radioaktivní materiál je nutno okamžitě utřít a kontaminované čisticí materiály umístit do sběrné nádoby pro radioaktivní odpad, potřísněné povrchy vyčistěte příslušným dekontaminantem (čištění je možno usnadnit překrytím pracovní plochy jednorázovým absorbčním materiálem)
- obalový materiál, který není kontaminován, je možno odložit do běžného odpadu pouze po odstranění varovných nápisů a značek
- všechno laboratorní sklo, které bylo použito pro práci s radioaktivními látkami, musí být před dalším použitím řádně dekontaminováno a proměřeno
- radioaktivní materiál, určený do odpadu, musí být likvidován v souladu s platnými právními předpisy v daném státě.

**VAROVÁNÍ 3:** Se všemi vzorky pacientů je nutno pracovat jako s **potenciálně infekčním** materiálem. Výchozím materiálem pro kalibrátory je lidská krev, která byla testována licencovanými reagenciemi a shledána negativní na HbsAg, HIV 1, HIV 2 a HCV protilátky. Vzhledem k tomu, že žádný známý test nemůže dát jistotu, že materiál není infekční, pracujte s ním jako s materiálem potenciálně infekčním.

**VAROVÁNÍ 4:** Kalibrátory < 0,1% obsahují **azid sodný (NaN<sub>3</sub>)** jako konzervační činidlo, což se za škodlivou koncentraci nepovažuje.

Azid sodný může reagovat s olověnými nebo měděnými uzávěry za tvorby vysoce explozivních azidů příslušných kovů. Jako prevenci tvorby azidů opláchněte uzávěry před likvidací velkým množstvím vody. Výjimečně mohou být kovové uzávěry opláchnuty také 10% hydroxidem sodným. Při kontaktu s kyselinami tvoří NaN<sub>3</sub> toxické výpary.

**VAROVÁNÍ 5:** Reagencie obsahují 0,1% Kathon, což se za škodlivou koncentraci nepovažuje.

## **PŘÍSTROJE**

K měření lze použít jakýkoliv gama čítač schopný měření <sup>125</sup>I. Účinnost měření by měla být pravidelně kontrolována, stejně tak i proměřováno pozadí. Doporučuje se systematická kalibrace přístroje. Podrobnosti týkající se zapojení, použití, údržby a kalibrace najdete v návodu k obsluze dodávaném výrobcem přístroje.

## **MANIPULACE SE VZORKEM; SKLADOVÁNÍ VZORKU**

Ačkoliv se doporučuje použít jako vzorek sérum, lze použít také vzorky plasmy (heparin, EDTA).

Pro ředění vzorků těhotných žen se používá nulový kalibrátor nebo vzorky s nízkou koncentrací progesteronu (v 1. trimestru ředit 1+2, v 2. trimestru 1+10 a ve 3. trimestru 1+20).

Vzorky je možno uchovávat 3 dny při teplotě 2-8°C, delší dobu při teplotě -20°C. Zabraňte opakovanému rozmražení a zmražení vzorku.

## PRACOVNÍ POSTUP

### Materiály potřebné, ale nedodávané se soupravou

MIKROPIPETY pro přesné odměření 50 µl a 500 µl

TESTOVACÍ ZKUMAVKY (pro stanovení celkové radioaktivity)

VIBRAČNÍ MÍCHADLO

DEKANTOVACÍ STOJÁNEK

BUNIČITÁ VATA

GAMA-ČÍTAČ

KRYCÍ FÓLIE PARAFILM

DESTILOVANÁ VODA

### Rekonstituce reagensů

Radioindikátor **nařed'te** tak, že obsah lahvičky radioindikátoru přidáte do lahvičky ředícího tlumivého roztoku. Před použitím **zamíchejte**.

### Pracovní postup

1. Všechny reagensie, vzorky a kontroly **vytemperujte** na laboratorní teplotu (18...25°C).
2. **Označte** zkumavky s navázanou protilátkou pro kalibrátory, kontrolní a patientská séra. Pracujte v duplikátech. Odděleně připravte dvě normální zkumavky pro stanovení celkové radioaktivity.
3. **Napipetujte** 50 µl kalibrátorů, kontrolních a patientských sér do příslušných zkumavek. Zkumavky pro stanovení celkové radioaktivity ponechte zatím prázdné.
4. Do všech zkumavek **přidejte** po 500 µl ředěného radioindikátoru (červený roztok).
5. Všechny zkumavky pečlivě **promíchejte** na vibračním míchadle.
6. Zkumavky **přikryjte** fólií a **inkubujte** 2 hodiny při laboratorní teplotě.
7. Obsah všech zkumavek, vyjma zkumavek pro stanovení celkové radioaktivity, **dekantujte** a zbytek tekutiny nechte **vstřebat** jemným poklepáním do buničité vaty. Zkumavky nechte **stát** vzhůru dnem alespoň 5 minut. Znovu **poklepte**, dokud zkumavky nejsou prázdné.
8. **Změřte** radioaktivitu všech zkumavek pomocí gamma-čítače po dobu alespoň 1 minuty nebo po akumulaci 10 000 impulsů/zkumavku.

## **Poznámky**

Abyste dosáhli vysoké přesnosti, dodržujte následující pravidla:

- Reagencie pipetujte přímo na dno zkumavek.
- Předcházejte poškrábání dna zkumavek špičkami pipet.
- Po odsátí nebo dekantaci nechte zbytek tekutiny ze zkumavek vstřebat jemným poklepáním do buničité vaty.

## **OMEZENÍ METODY**

Jako základ pro terapeutická a diagnostická rozhodnutí, musí být měření progesteronu podepřeno dalšími relevantními daty.

## **ZAJIŠTĚNÍ JAKOSTI**

Doporučujeme všem laboratořím používat interní program kontroly kvality tak, že se současně analyzují séra s nízkou i vysokou hraniční koncentrací normálního rozmezí. Doporučujeme, aby si každá laboratoř vytvořila vlastní přijatelné rozmezí pro kontrolní vzorky. Průměr kontrolního rozmezí by měl být uvnitř přijatelného rozmezí daného výrobcem. K měření kontrolních hodnot použijte alespoň dvou různých šarží.

## VÝPOČET VÝSLEDKŮ

Při automatickém výpočtu výsledků doporučujeme použít spline funkci. Výsledky lze odečíst manuálně z kalibrační křivky vynesené v semilogaritmických souřadnicích.

**Vypočtete** průměr četností všech kalibrátorů, vzorků a kontrol.

**Vypočtete** % (B/Bo) pomocí rovnice:

$$\% B/B_0 = \frac{\text{četnost kalibrátoru nebo vzorku} \times 100}{\text{četnost nulového kalibrátoru}}$$

**Vyneste** kalibrační křivku v semi-logaritmických souřadnicích tak, aby % (B/Bo) byla na ose **y** a koncentrace kalibrátorů progesteronu (nmol/l) na ose **x**.

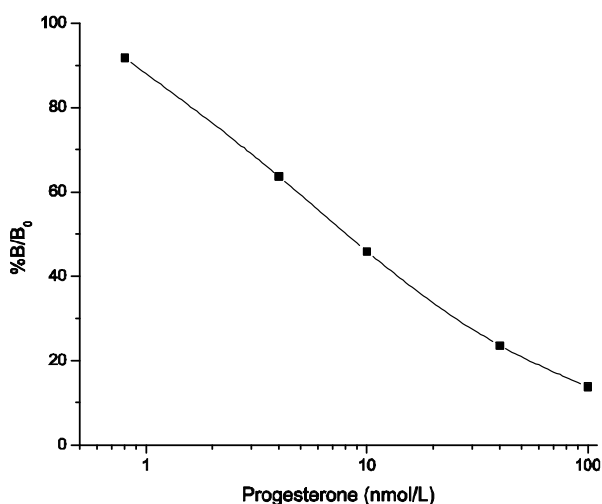
**Odečtete** koncentrace progesteronu v neznámých vzorcích z kalibrační křivky a zprůměrujte hodnoty duplikátů.

### Obr. 1

Typická kalibrační křivka.  
Příklad.

### Tabulka 1

Typická kalibrační křivka a výpočet výsledků.  
Příklad.



Zkumavka	Průměr cpm	%B/B <sub>0</sub>	Konc. (nmol/l)
Celková aktivita	39370		
Kal 0	14211		
Kal 0.8	13032	91,7	
Kal 4.0	9055	63,7	
Kal 10	6517	45,9	
Kal 40	3358	23,6	
Kal 100	1963	13,8	
Neznámý vzorek 1	3364	24,0	38,6
Neznámý vzorek 2	9055	64,0	4,4

Hodnoty progesteronu jsou získány v SI jednotkách, nmol/l. Převod na ng/ml je možný s použitím následující rovnice:

$$\text{progesteron (ng/ml)} = \text{progesteron (nmol/l)} \times 0,314$$

## REFERENČNÍ HODNOTY

Z důvodů etnické, dietární a věkové variability nemusí tyto referenční hodnoty odpovídat celé populaci. Každá laboratoř by si proto měla udělat vlastní rozmezí referenčních hodnot.

Byly měřeny hodnoty měřeny během jednoho menstruačního cyklu u 10 zdravých, normálně menstrujících žen. Ovulační dny byly stanoveny měřením koncentrace LH u každého vzorku. Měřeny byly také koncentrace sérového progesteronu 50 post-menopauzálních žen a u 50 mužů.

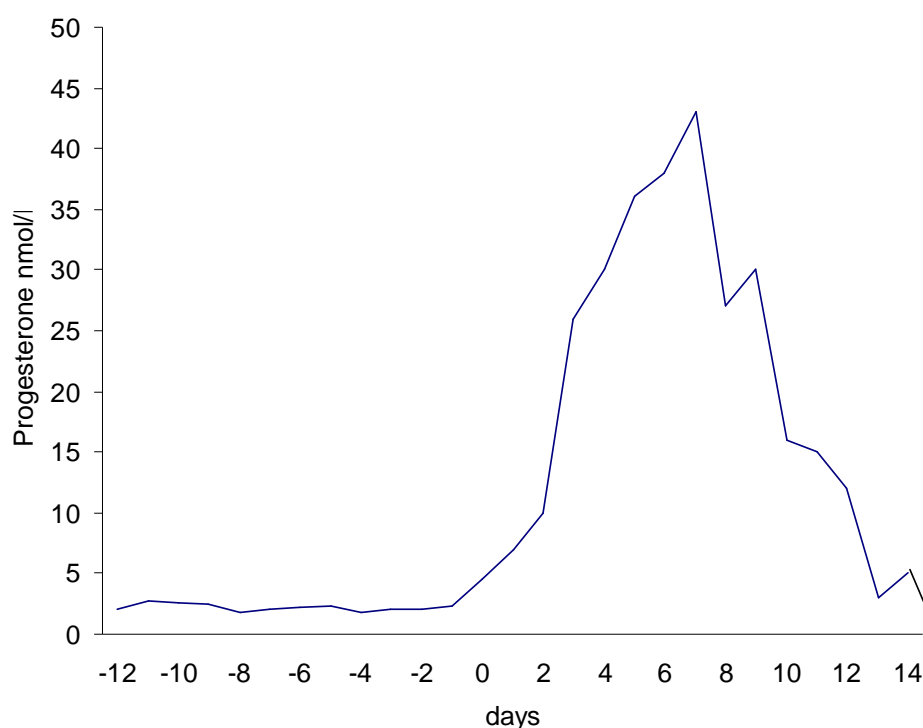
### Tabulka 2. Sérové koncentrace progesteronu (nmol/l)

Referenční hodnoty byly vypočítány na základě referenčních hodnot předchozí verze soupravy (68521) pomocí rovnice lineární regrese  $y = 1.03x - 0.73$ .

Vzorek	n	Dny*	Rozmezí
Folikulární fáze	28	-10 – -3	< 1,7
Ovulace	10	0	1,4 – 4,7
Luteální fáze	28	+4 – +11	15 – 58
Postmenopauzální ženy	50		< 3,5
Muži	50		< 3,9

\* mínus znamená dny před ovulací, plus dny po ovulaci, nd znamená nedetekovatelné

**Obr. 2** Průměrné koncentrace sérového progesteronu u 10 zdravých, normálně menstrujících žen během jednoho menstruačního cyklu. Den 0 je den s nejvyšší koncentrací LH.



## ANALYTICKÉ PARAMETRY MĚŘENÍ

Níže uvedené výsledky byly získány v Orion Diagnostica a představují typická analytická data.

### Měřicí rozmezí

0,8 – 100 nmol/l.

### Analytická mez detekce

Mez detekce, definovaná jako nejnižší detekovatelná koncentrace odpovídající dvojnásobku směrodatné odchylky hodnot nulového kalibrátoru, je než lepší 0,7 nmol/l.

### Funkční mez detekce

Je přibližně 0,7 nmol/l.

### Linearita

Vzorky sér mohou být ředěny do poměru 1:16 sérem pacientky neobsahujícím tento hormon nebo sérem odebraným ve folikulární fázi, lze také použít sérum muže. Séra těhotných žen je možno ředit podle návodu v kapitole „Manipulace se vzorkem; skladování vzorku“ (str. 6).

### Metoda standardního přípravku (recovery)

Známa množství progesteronu byla přidána k 3 patientským sérum. Standardní přídatky byly v rozmezí od 85 do 109 %.

### Preciznost (precision)

3 vzorky a 3 kontroly s různou koncentrací progesteronu byly analyzovány k určení intra-assay a inter-assay variability.

**Tabulka 3** Intra-assay/inter-assay preciznost

Intra-assay preciznost 10 replikátů			Inter-assay preciznost 10 duplikátů		
Vzorek	Průměr (nmol/l)	CV (%)	Vzorek	Průměr (nmol/l)	CV (%)
1	1,5	11,5	5	2,2	7,8
2	15,7	3,0	6	11,8	5,1
3	31,1	3,8	7	37,2	4,8

### Interferující látky

Bilirubin v séru do koncentrace  $\leq 385$   $\mu\text{mol/l}$  a hemoglobin v séru do koncentrace  $\leq 5$  g/l nemají vliv na měření koncentrace progesteronu. Triglyceridy v séru do koncentrace  $\leq 6$  g/l neinterferují.

## Specificita

Bylo testováno procento zkřížených reakcí (při 50% vazebné kapacitě) s různými látkami.

**Tabulka 4** Zkřížené reakce antiséra progesteronu

<b>Substance</b>	<b>Cross-reactivity%</b>
Progesterone	100%
5 $\beta$ -Dihydroprogesterone	3,2
5 $\alpha$ -Dihydroprogesterone	2,5
Corticosterone	0,74
11-Deoxycorticosterone	0,50
Estrone	0,43
20 $\beta$ -Hydroxyprogesterone	0,093
20 $\alpha$ -Hydroxyprogesterone	0,084
Pregnenolone	0,034
17 $\alpha$ -Hydroxyprogesterone	0,027
Pregnenolone-3-sulphate, Na-salt	0,018
Testosterone	0,012
Cortisone	< 0,01
Cortisol	< 0,01
Estradiol	< 0,01
Estriol	< 0,01

# Spectria Progesterone RIA

## Kat.č. 06196

### Obsah soupravy (100 TESTŮ)

*Progesterone coated tubes:* Zkumavky s navázanou protilátkou proti progesteronu

*Progesterone tracer:* Progesteron radioindikátor

*Progesterone tracer diluent:* Progesteron ředící roztok pro radioindikátor

*Progesterone calibrators:* Progesteron kalibrátory

### Souhrn pracovního postupu (všechny objemy jsou v $\mu$ l)

	<b>Celková aktivita</b>	<b>Kalibrátor</b>	<b>Kontrolní vzorek</b>	<b>Neznámý vzorek</b>
<b>Pipetování vzorku</b>		50	50	50
<b>Pipetování radioindikátoru (červený)</b>	500	500	500	500
<b>Promíchání</b>		x	x	x
<b>Inkubace 2h při laboratorní teplotě</b>		x	x	x
<b>Dekantace</b>		x	x	x
<b>Měření po dobu 1min. nebo 10.000 impulsů</b>	x	x	x	x

SPECTRIA je ochranná známka firmy Orion Diagnostica Oy

06196-CZ01

Sídlo v ČR (zastoupení pro ČR a SR): Orion Diagnostica-organizační složka  
Bělohorská 57, 169 00 Praha 6  
Tel. +420 233 350 533, fax:+420 233 350 532  
E-mail: [orion@oriondiagnostica.cz](mailto:orion@oriondiagnostica.cz)  
[www.oriondiagnostica.cz](http://www.oriondiagnostica.cz)