Afdeling SERH 1986-10-25

RAPPORT 86.99 Pr.nr. 505.0742

Onderwerp: Onderzoek naar de bruikbaarheid van uit Duitsland verkregen antiserum tegen 19-nortestosteron (NT α+β) in de bepaling van deze stof m.b.v. Celithe-RIA.

Verzendlijst: directeur, directie VKA, sektorhoofd, afdeling SERH, bibliotheek (1x), projektleider, projektbeheer, circulatie.

8699

Afdeling SERH 1986-10-25

RAPPORT 86.99 Pr.nr. 505.0742

Projekt: Ontwikkeling residubepalingen voor nortestosteron en metabolieten hiervan m.b.v. behandeling van een aantal vleesstieren.

Onderwerp: Onderzoek naar de bruikbaarheid van uit Duitsland verkregen antiserum tegen 19-nortestosteron (NT α+β) in de bepaling van deze stof m.b.v. Celithe-RIA.

Doel:

Onderzoek naar de toepasbaarheid van een Celithe-RIA voor de bepaling van 19-NT in runder urine.

Samenvatting:

De toepasbaarheid van een Celithe-RIA tegen NT is onderzocht. Diverse urines werden onderzocht m.b.v. Celithe-RIA en HPLC-RIA (RVV resultaten).

Conclusie:

1. Er zijn 124 urines met de Celithe-RIA methode onderzocht, hiervan bevatten er 93 gehalten van < 1,0 ng/ml. De CLRVV heeft er hiervan 69 m.b.v. HPLC-RIA onderzocht.
2. In 14 gevallen is er een discrepantie, namelijk 12 hiervan zijn door het CLRVV < 1,0 ng/ml bevonden en 2 > 1,0 ng/ml. Het RIKILT heeft het tegenovergestelde gevonden (12 > 1,0 ng/ml en 2 < 0,1 ng/ml).
3. Van de, door beide, geanalyseerde urines is in 83% gehalten van gelijke orde gevonden.

Verantwoordelijk : dr W.G. de Ruig

Medewerker/samensteller: G.D. van Bruchem

Projektleider : Q. Vos

1. Inleiding

De huidige, door het CLRVV toegepaste methode, screening van urine op de aanwezigheid van NT wordt met een HPLC-RIA methode uitgevoerd. Met deze methode kan een 16-tal urine-monsters per 2 dagen geanalyseerd worden. Er is onderzoek gedaan naar de Celithe-RIA methode als snellere screeningsmethode.
Het artikel van H.H.D. Meyer en S. Hoffmann: "Arbeitsvorschrift für die Bestimmung von 19-Nortestosteron in Urin und Galle mittels RIA und HPLC-RIA", beschrijft het gebruik van een antiserum dat naast een 100% binding van 19βNT een 60% binding van 19αNT heeft. Met dit antiserum zijn diverse urinemonsters op NT geanalyseerd.

2. Uitvoering

Urinemonsters zijn verkregen van het CLRVV, een gedeelte hiervan is door het CLRVV geanalyseerd op 19-NT m.b.v. de HPLC-RIA methode nr. A 421 "Urine - Aantonen en bepalen van nortestosteron HPLC-RIA". Voor de door het CLRVV uitgevoerde HPLC-RIA wordt gebruik gemaakt van een antiserum, dat door het RIVM geleverd en geproduceerd wordt.
De gevolgde werkwijze voor de screening van NT in urine m.b.v. een Celithe-RIA staat beschreven in intern analysevoorschrift nr. A 468 "Urine- Bepaling van nortestosteron (NT) Methode: Radioimmunochemie na chromatografische voorzuivering m.b.v. een Chromatolithe A kolom".

3. Resultaten

De resultaten worden weergegeven in tabel 1.

Tabel 1.
Het gehalte van Nortestosteron in monsters urine

Monster nr.	HPLC-RIA A.S. RIVM ng/ml CLRVV	Celithe A-RIA (duits A.S.) ng/ml RIKILT
U86/400	<0,2	0,52
U86/402	<0,2	0,52
U86/403	<0,2	0,54
U86/404	<0,2	0,52
U86/405	<0,2	0,66
U86/406	<0,2	<0,2
U86/407	<0,2	<0,2
U86/408	<0,2	0,29
U86/409	<0,2	<0,2
U86/410	<0,2	<0,2
U86/411	<0,2	<0,2
U86/412	<0,2	<0,2
U86/426	<0,2	1,27
U86/427	<0,2	<0,2
U86/428	<0,2	<0,2
U86/429	<0,2	<0,2
U86/430	<0,2	0,64
U86/431	<0,2	0,66
U86/432	<0,2	0,66
U86/433	<0,2	0,31
U86/434	<0,2	<0,2
U86/435	<0,2	0,46
U86/436	<0,2	0,24
U86/437	<0,2	<0,2
U86/438	<0,2	0,36
U86/439	<0,2	0,28
U86/440	<0,2	0,45
U86/459	<0,2	1,16
U86/460	<0,2	0,65
U86/461	<0,2	0,35
U86/462	<0,2	<0,2
U86/463	<0,2	0,90
U86/464	<0,2	0,38
U86/465	<0,2	0,74
U86/467	<0,2	0,70
U86/468	<0,2	0,38
U86/469	<0,2	0,38
U86/470	<0,2	0,54
U85/5305	1,5	1,61
U86/5369	4,5	2,53
U86/1	4	6,92
U86/2	4,5	7,57
U86/3	3,5	2,53
U86/4	1,5	0,2
U86/5	6	8,15
U86/7	3,5	0,65
U86/29	6	8,7
U86/257	<0,2	<0,2

Vervolg tabel 1.
Het gehalte van Nortestosteron in monsters urine

Monster nr.	HPLC-RIA A.S. RIVM ng/ml CLRVV	Celithe A-RIA (duits A.S.) ng/ml RIKILT
nr.97	3	15
U86/676	pos.	3,31
U86/231[1)]	n.o. 8,5[2)]	2,44 - 2,94 - 6,30 - 5,47
U86/248[1)]	n.o. - [2)]	<0,2 - 0,52 - 0,21 - 0,31
U86/253[1)]	n.o. - [2)]	<0,2 - 1,68 - 0,64 - 0,23
U86/262[1)]	n.o. 1,9[2)]	0,48 - 1,81 - 0,88 - 1,19
U86/267[1)]	n.o. 1,4[2)]	0,2 - 2,23 - 1,84 - 1,18
U86/1134	n.o. 3)	0,66
U86/1135		0,24
U86/1136		0,42
U86/1137		0,63
U86/1138		<0,2
U86/1139		1,29
U86/1140		0,2
U86/1141		0,70
U86/1142		0,48
U86/1143		<0,2
U86/1144		<0,2
U86/1145		0,79
U86/1146		3,31
U86/1147		0,28
U86/1148		0,69
U86/1149	<0,2	1,77
U86/1150		0,93
U86/1151		0,79
U86/1152		0,29
U86/1153		0,65
U86/1154		0,42
U86/1155		0,63
U86/1156		<0,2
U86/1157		0,68
U86/1158		0,45
U86/1159		<0,2
U86/1160		0,36
U86/1162		1,08
U86/1161	pos.	8,36
U86/1189		0,29
U86/1190		0,62
U86/1191		0,90
U86/1192		0,68
U86/1193+S		3,29
U86/1194		0,37
U86/1195		0,68
U86/1196		0,73
U86/1197		<0,2
U86/1198		0,40
U86/1199	pos.	0,30

Vervolg tabel 1.
Het gehalte van Nortestosteron in monsters urine

Monster nr.	HPLC-RIA A.S. RIVM ng/ml CLRVV	Celithe A-RIA (duits A.S.) ng/ml RIKILT
U86/1200	neg.	2,96
U86/1201	neg.	1,36
U86/1202	neg.	1,60
U86/1203	|	0,53
U86/1204	|	0,23
U86/1205	neg.	4,46
U86/1206	|	<0,2
U86/1207	pos.	6,66
U86/1126	|	0,20
U86/1127	|	0,23
U86/1128	|	<0,2
U86/1129	|	<0,2
U86/1130	|	0,23
U86/1131	|	<0,2
U86/1132	|	0,37
U86/1133	|	0,64
GX 66306	<0,2	1,11
GX 66308	<0,2	1,22
X 4BH2542	<0,2	0,36
A	<0,2	<0,2 - <0,2
B	<0,2	0,40 - <0,2
C	<0,2	1,71 - 0,66
D	<0,2	<0,2 - <0,2
E	<0,2	0,45 - <0,2
F	<0,2	0,68 - 0,44
G	n.o.	0,99 - 1,15
H	<0,2	<0,2 - <0,2
I	<0,2	1,68 - 1,65

1) Urines afkomstig van dhr. Meyer uit West-Duitsland, die het antiserum ter beschikking heeft gesteld.
2) Door dhr. Meyer opgegeven gehaltes.
3) N.O. is niet onderzocht.

4. Conclusie

4.1 Er zijn 124 urines met de Celithe-RIA onderzocht, hiervan bevatten er 93 gehalten van <1,0 ng/ml.
De CLRVV heeft er hiervan 69 m.b.v. HPLC-RIA onderzocht.

4.2 In 14 gevallen is er een discrepantie, namelijk 12 hiervan zijn door het CLRVV <1,0 ng/ml bevonden en 2 >1,0 ng/ml. Het RIKILT heeft het tegengestelde gevonden (12 >1,0 ng/ml en 2<0,1 ng/ml).

4.3 Van de, door beide, geanalyseerde urines zijn in 83% gehalte van gelijke orde gevonden.

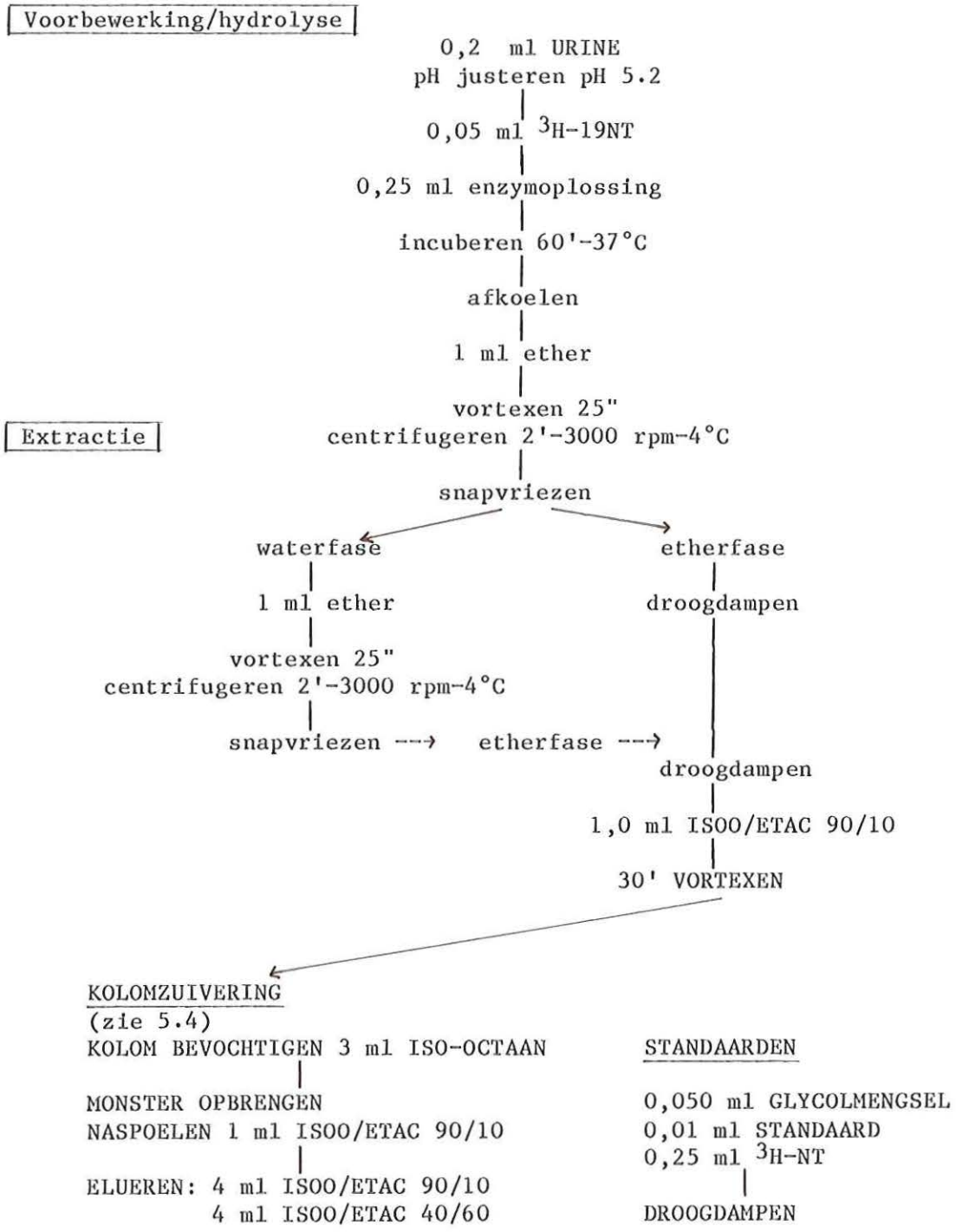
5. Referenties

5.1 H.H.D. Meyer und S. Hoffmann
Arbeitsvorschrift für die Bestimmung von 19-Nortestosteron in Urin und Galle mittels RIA und HPLC-RIA".

5.2 Urine-aantonen en bepalen van nortestosteron- HPLC-RIA. Intern analysevoorschrift nr. A 421.

5.3 Runderurine-bepaling van diethylstilbestrol (DES)- Methode: Radio-immunochemie na chromatografische voorzuivering m.b.v. een chroma-tolithe a kolom. Intern analysevoorschrift A 270.

Schema Intern Voorschrift A 270



OPVANGEN 40/60 FRACTIE (zie 5.4)
SPLITSEN IN 2 x 2 ml
INDAMPEN

