

НАБОР DHEA-SO₄ [¹²⁵I] RIA

(Номер по каталогу: RK-620CT)

Описание

Система DHEA-SO₄[¹²⁵I] позволяет проводить количественное определение DHEA-SO₄ *in vitro* в человеческой сыворотке или плазме. Количественное определение DHEA-SO₄ может проводиться в диапазоне от 0 до 30 мкмоль/л (0-11,05 мкг/мл). Каждый набор содержит материалы, достаточные для определения 100 пробирок, позволяя построить одну стандартную кривую и проанализировать 43 образца в двух экземплярах.

Введение

Сульфат дегидроэпиандростерона (DHEA-SO₄) синтезируется исключительно в коре надпочечников и представляет собой наиболее распространенный стероидный гормон в периферическом кровообращении. Он является основным источником мочевых 17-кетостероидов. Метаболическое преобразование DHEA-SO₄ протекает медленно и в основном он превращается в эстрогены. Гормон находится на максимальном уровне с подросткового возраста до 20-30 лет, затем в крови наблюдается постоянное понижение концентрации DHEA-SO₄, особенно это наблюдается у женщин во время менопаузы. Хотя физиологическая роль DHEA-SO₄ не установлена, уровень данного стероидного гормона в сыворотке имеет информативное патофизиологическое значение.

1. Радиоиммунологический анализ DHEA-SO₄ в сыворотке представляет собой надежное средство для оценки андрогенной функции надпочечников и избыточного образования андрогенов.

2. Высокий уровень DHEA-SO₄ указывает на вирулирующее нарушение надпочечников у женщин. Это включает в основном новообразования надпочечников и рано или поздно начинающуюся гиперплазию коры надпочечников.

3. Мониторинг концентрации DHEA-SO₄ может быть полезен для контроля супрессивной терапии надпочечников (дексаметазон).

4. Низкий уровень DHEA-SO₄ может быть показателем гормонозависимых иммунологических расстройств.

5. Низкий уровень DHEA-SO₄ может быть связан с развитием заболевания, которое прогрессирует с возрастом, такого как рак и атеросклероз. В данном случае рекомендуется систематически повторять оценку уровня DHEA-SO₄ крови.

Принцип метода

Данный анализ основан на конкуренции за ограниченное количество мест связывания на DHEA-SO₄ специфических антител между немеченым DHEA-SO₄ и ¹²⁵I-

меченым DHEA-SO₄. Во время инкубации иммуно-комплекс антиген-антитело иммобилизируется на реактивной поверхности пробирок, после чего реакционную смесь извлекают и с помощью гамма-счетчика измеряют радиоактивность.

Концентрация антигена прямо пропорциональна уровню радиоактивности в пробирках. Путем построения калибровочной кривой, в которой отражаются полученные значения в сравнении с серией калибраторов, содержащих известное количество DHEA-SO₄, может быть определена искомая концентрация DHEA-SO₄ в образцах пациента.

Содержание набора

1 флакон	125I-метки, готовые к использованию.
	55 мл на флакон, содержащий менее чем 275 КБк DHEA [¹²⁵ I] в буфере с 0,1% NaN ₃ .
6 флаконов	СТАНДАРТЫ, готовые к использованию.
	0,5 мл на флакон, содержащий 0; 0,3; 1; 3; 10; 30 мкмоль/л в сыворотке крови человека с 0,1% NaN ₃ .
1 флакон	АНТИСЫВОРОТКА, готовая к использованию.
	55 мл на флакон, содержащий поликлональные анти-DHEA-SO ₄ (кроличьи) IgG в буфере с 0,1% NaN ₃ .
1 флакон	КОНТРОЛЬНАЯ СЫВОРОТКА. Лиофилизованная сыворотка крови человека с 0,1% NaN ₃ .
	Концентрация сыворотки указана в сертификате качества, который прилагается.
2 коробки	ПРОБИРКИ С ПОКРЫТИЕМ, 2x50 штук 12x75 мм, упакованные в пластиковые коробки.
1	Сертификат качества.
1	Листок-вкладыш

Необходимые материалы и оборудование

Штатив, позволяющий зафиксировать пробирки
Автоматические пипетки (10 и 500 мкл)
Полиэтиленовая пленка для закрывания пробирок
Вихревой смеситель
Шейкер (круговой или горизонтальный)
Абсорбирующая ткань
Гамма-счетчик
Рекомендуемые инструменты и оборудование
Градуированные пипетки

Сбор и хранение образцов

Образцы сыворотки могут быть приготовлены согласно общепринятым методикам, которые рутинно используются в клинической

лабораторной практике. Сыворотка может храниться при температуре 2-8 °С в течение двух дней после сбора. Для дальнейшего анализа они должны храниться в условиях глубокой заморозки. Следует избегать повторного замораживания и оттаивания. Не используйте липемические, гемолизированные или мутные образцы.

Приготовление реактивов, хранение

Хранить реактивы необходимо при температуре от 2 до 8 °С. При данной температуре все реактивы стабильны до истечения срока годности.

Добавьте к лиофилизированной контрольной сыворотке 500 мкл дистиллированной воды. Аккуратно перемешайте встряхиванием или вихревыми движениями (следует избегать образования пены). Убедитесь, что содержимое полностью растворилось и дайте раствору уравниваться до комнатной температуры в течение 20 минут.

Уравновесьте все реактивы и образцы сыворотки до комнатной температуры (минимум в течение одного часа). Перед использованием аккуратно смешайте все реактивы и образцы. Избегайте чрезмерного пенообразования.

Процедура количественного определения

(Краткое описание процедуры см. в Таблице 1.)

1. Промаркируйте в двух экземплярах пробирки с покрытием для каждого стандарта (S1-S6), контрольной сыворотки (C) и образцов (SX). При желании промаркируйте две пробирки для всего количества (T).
2. С помощью пипетки поместите 10 мкл содержимого каждого стандарта, контрольной сыворотки и образцов в предварительно промаркированные пробирки.
3. С помощью пипетки поместите в каждую из пробирок 500 мкл метки.
4. Внесите пипеткой 500 мкл антисыворотки в каждую пробирку кроме T.
5. Крепко зафиксируйте штатив на шейкере. Закройте все пробирки с полиэтиленовой пленкой. Включите шейкер и настройте подходящую скорость, чтобы жидкость в каждой пробирке постоянно вращалась или перемешивалась (рекомендуется мин. 600 об / мин).
6. Инкубируйте пробирки в течение 1 часа при комнатной температуре.
7. Отберите или перелейте супернатант из всех пробирок путем переворачивания штатива. Поместите штатив на фильтровальную бумагу в перевернутом состоянии на 5 минут.
8. Подсчитайте радиоактивность в каждой пробирке в гамма-счетчике в течение как минимум 60 секунд.
9. Рассчитайте концентрацию DHEA-SO₄ образцов, как описано в разделе «Расчеты»

результатов».

Таблица 1. Протокол количественного определения (все объемы указаны в микролитрах)

T=общее количество, S₁₋₆=стандарты, S_x=образец, C=контроль

Пробирки	T	S ₁₋₆	C	S _x
Стандарт		10		
Контроль			10	
Образец				10
Метка	500	500	500	500
Антисыворотка		500	500	500
Перемешивать в течение 1 часа при комнатной температуре				
Слить жидкость и поставить на фильтровальную бумагу				
Посчитать все пробирки				

Расчет результатов

Рассчитать среднее значение в минуту (CPM) для каждой анализируемой пары проб. Рассчитать процент V₀/T для нулевого стандарта (S₁), используя следующую формулу:

$$V_0/T \% = 100 * S_1(\text{cpm}) / T(\text{cpm})$$

Рассчитать стандартный процент связывания для каждого стандарта, контроля и образца соответственно, используя следующую формулу:

$$V/V_0 \% = 100 * S_{2-6} ; C ; S_x(\text{cpm}) / S_1(\text{cpm})$$

Для упрощения значения для неспецифического связывания (NSB) не исправлены, так как низкое NSB составляет менее 3% от общего количества.

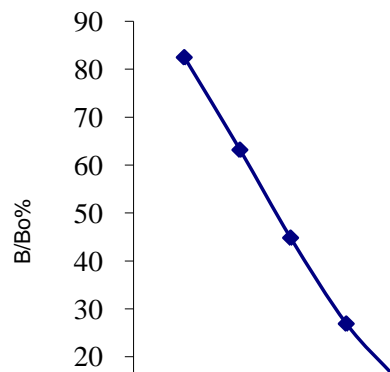
Используя полу-логарифмическую миллиметровую бумагу, постройте график V/V₀% для каждого стандарта относительно соответствующей концентрации DHEA-SO₄. На Рисунке 1 показана типичная стандартная кривая. Определите концентрацию DHEA-SO₄ неизвестного образца методом интерполяции по калибровочной кривой. Не экстраполируйте значения, находящиеся за пределами диапазона стандартной калибровочной кривой. Так же доступна автоматизированная система обработки данных.

Таблица 2. Типичные данные количественного определения

Пробирки	Количество CPM1	Количество CPM2	Среднее CPM	V/T %	V/V ₀ %
T	79631	80972	80301		
S1	69071	69564	69317	86.3	100
S2	57468	56881	57174	71.2	82.5
S3	43593	44028	43810	54.6	63.2
S4	31210	30921	31065	38.7	44.8
S5	18960	18413	18686	23.3	26.9
S6	10912	10280	10596	13.2	15.3
C	24014	24225	24119	30.0	34.8

Рисунок 1.

Типичная стандартная кривая (Не использовать для подсчета объема образцов)



Преобразование единиц СИ может быть выполнено в соответствии со следующей формулой:

$$1 \text{ мкмоль/л} = 0.37 \text{ мкг/мл}$$

$$1 \text{ мкг/мл} = 2.71 \text{ мкмоль/л}$$

Характеристика количественного определения

Параметры количественного определения

Специфичность

Предел определения: 0.064 мкмоль/л

Специфичность

Различные эндогенные гормоны были добавлены к «0» стандарту при двух уровнях концентрации (A=70 нмоль/л, B=700 нмоль/л). Концентрации DHEA-SO₄, измеренные в этих экспериментах, представлены в Таблице 3.

b: нижний предел определения (0,064 мкмоль/л)

Таблица 3. (концентрация в мкмоль/л)

Определяемое вещество	A		Определяемое вещество	B	
	А	В		А	В
Альдостерон	b	b	Кортизол	b	b
Андростендион	b	0.1	Эстриол	b	b
5α-Дигидротестостерон	b	b	Эстрон	b	b
5β-Дигидротестостерон	b	b	Прогестерон	b	b
Андростендиол	b	b	Прегненолон	b	b
17α-гидроксипрогестерон	b	b	Тестостерон	b	b
Андростендион	b	b	DHEA	0.15	2.29

Таким образом, физиологическая концентрация DHEA составляет около 13-24 нмоль/л (литературные данные) и искажения, связанные с перекрестной реактивностью незначительные.

Точность, воспроизводимость

Шесть контрольных образцов были проанализированы в 20 повторах для определения точности результатов в серии. Чтобы определить точность результатов между сериями, они были проанализированы в двух экземплярах в 22 независимых анализах. Полученные значения представлены ниже.

В ходе количественного определения		Между количественными определениями	
Значение (мкмоль/л)	CV%	Значение (мкмоль/л)	CV%
0.8	3.05	0.78	5.32
1.96	2.91	1.78	3.9
3.78	4.61	3.91	5.8
5.46	1.63	5.66	3.66
14.25	2.28	13.4	3.59
18.27	3.42	19.38	5.01

Восстановление

Восстановление было определено как измеренное увеличение ожидаемого повышения пиков образцов сыворотки в процентном выражении при известном количестве DHEA-SO₄. Средний процент восстановления для 5 образцов сыворотки с пиками DHEA-SO₄ на 3 уровнях был 103,5% (96,8% - 108,6%).

Тест на разведение (линейность)

6 образцов были серийно разведены с нулевым стандартом и измерены согласно протоколу набора. Следующее уравнение, полученное для фактической (Y) относительно ожидаемой (X) концентрации демонстрирует хорошую линейность:

$$y = 0.9854x - 0.0613 \quad R^2 = 0.9988 \quad n = 30$$

Ожидаемые эталонные значения

Рекомендуется, чтобы каждая лаборатория определяла собственный диапазон эталонных значений. Концентрация значений выражается в мкмоль / л.

Мужчины			
N	Возрастная группа (годы)	Среднее	Диапазон (основной 95%)
100	18 - 30	10.1	3.8 - 17.5
100	31 - 50	6.7	3.0 - 14.2
50	51 - 60	5.2	1.6 - 11.3
27	> 60	2.1	0.7 - 8.1

Женщины			
N	Возрастная группа (годы)	Среднее	Диапазон (основной 95%)
100	18 - 30	6.22	2.1 - 12.8
100	31 - 50	4.89	1.5 - 11.5
50	51 - 60	2.95	0.5 - 8.9
17	> 60	2.75	0.4 - 5.9

Полученные результаты следует интерпретировать только в контексте общей клинической картины. Ни один из диагностических наборов не может быть

использован в качестве единственного доказательства наличия какого-либо заболевания либо нарушения.

Примечания к методике

1) Источник ошибки! Пробирки, упакованные в пластиковые коробки, индивидуально не промаркированы. Для минимизации риска никогда не берите из пластиковой коробки больше пробирок, чем необходимо, и после работы положите их обратно в коробку. Рекомендуется помечать пробирки для анализа маркером.

2) Источник ошибки! Для обеспечения эффективного пользования, необходимо убедиться, что пробирки безопасно находятся в штативе. Никогда не используйте штативы с открытым отверстием. Неравномерное или неполное встряхивание может стать причиной низкой эффективности количественного определения.

3) Источник ошибки! Не используйте шейкер в случае, если пробирки могут подвергаться нагреванию. Не следует помещать шейкер прямо около кондиционера, нагревательного прибора или около открытого окна. Любые температурные различия во время инкубации пробирок могут привести к серьезным ошибкам измерения.

Дополнительная информация

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

Меры предосторожности

Радиоактивность

Данный продукт содержит радиоактивный материал. Получение, приобретение, владение или использование радиоактивных материалов является предметом, на который распространяются правила, и лицензии (меж) национальных уполномоченных органов. Ответственность пользователя ложится на выполнение местных законов или правил, относящихся к порядку использования радиоактивных материалов.
















Потенциально инфекционный материал

Продукты человеческой крови, предоставленные в качестве компонентов для данного продукта, были получены у доноров, индивидуально протестированных на наличие антител к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ-Ab), поверхностных антигенов вируса гепатита В (HBsAg), антител к вирусу Гепатит-С, антител к Трепонеме (при использовании Иммуноферментного анализа) и давших при этом отрицательные результаты. Следует всегда соблюдать осторожность при обращении с человеческими образцами, которые должны быть протестированы диагностическими наборами. Даже если объект был протестирован, все равно ни один метод не может дать полной гарантии отсутствия инфекционных агентов. С образцами крови человека

всегда стоит 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. Содержание азидов в каждой упаковке составляет 115 мг.

	Использовано		Номер партии
	Температурный предел		Контроль
	Внимание, обратитесь к сопроводительным документам		Стандарт
	Биологическая опасность		Пробирка с покрытием
	Обратитесь к инструкции по использованию		Метка
	In vitro диагностическое устройство		Антисыворотка
	Производитель		Номер по каталогу
	Радиоактивный материал		



Сайт: <http://www.izotop.hu>

Технический e-mail: immuno@izotop.hu

Коммерческий e-mail: commerce@izotop.hu



INSTITUTE OF ISOTOPES LTD.

1535 Budapest. Pf.: 851.

Тел.: (36-1)392-2577,

Факс: (36-1)395-9247

Обновлено: 24.02.2014