

## <sup>125</sup>I-DHEA-SO<sub>4</sub> RIA KÉSZLET (Ref: RK-620CT)

A <sup>125</sup>I-DHEA-SO<sub>4</sub> készlet humán szérum dehidroepiandrosteron-szulfát (DHEA-SO<sub>4</sub>) tartalmának in vitro direkt meghatározására szolgál. A készlet 100 meghatározásra elegendő reagenst tartalmaz, amellyel két párhuzamos mérés esetén 43 minta DHEA-SO<sub>4</sub> koncentrációja határozható meg, a 0-30 µmol/l (0-11,05 µg/ml) mérési tartományban.

### Bevezetés

A DHEA-SO<sub>4</sub> csaknem kizárólag a mellékvesekéregben képződik, és mennyiségileg a legfontosabb szteroidhormon a perifériás vérben. A DHEA-SO<sub>4</sub> a legfőbb forrása a 17-ketoszteroidoknak a vizeletben. Egyetlen szérum DHEA-SO<sub>4</sub> meghatározással kiküszöbölhető a napi vizeletgyűjtés kényelmetlensége és pontatlansága. Vérszintjének nincs napi ingadozása, nem változik naponként, és a menstruációs ciklus alatt sem. A DHEA-SO<sub>4</sub> termelés nagy és létfontosságú a magzat élettani fejlődéséhez az intrauterin életben. Születés után 8-12 éves korig a DHEA-SO<sub>4</sub> koncentráció a vérben alacsony. Ezt követően a szérum szint fokozatosan nő a pubertás kezdetéig, maximális érték 20-30 éves korig, majd fokozatosan csökken, főleg nőkben a menopauza idején.

A DHEA-SO<sub>4</sub> szérum szint informatív számos patofiziológiai állapotban.

1. A szérum DHEA-SO<sub>4</sub> meghatározása nélkülözhetetlen a mellékvesekéregben képződő androgén termelés, illetve túltermelés kimutatására.

2. A magas DHEA-SO<sub>4</sub> szint a vérben kórjelzője a mellékvese eredetű virilizációs kórállapotokra nőkben. Ezek között elsősorban a mellékvese tumorokat és a kongenitális mellékvesekéreg hiperplázia korai vagy késői megjelenését kell említeni.

3. Sorozatos DHEA-SO<sub>4</sub> szint mérés alkalmas a mellékvese szuppresszív terápia ellenőrzésére is (Dexamethason-kezelés).

4. Az alacsony DHEA-SO<sub>4</sub> érték jelzője a szteroidhormontól függő immunológiai kórkepeknek.

5. Az alacsony DHEA-SO<sub>4</sub> szint kísérője egyes rákos vagy szív és érrendszeri megbetegedéseknek időskorban.

### A mérés elve

A DHEA-SO<sub>4</sub> mennyiségi meghatározására alkalmas jelen készlet működése a kompetitív radioimmunoassay elvén alapul. <sup>125</sup>I-dal jelzett állandó mennyiségű DHEA-SO<sub>4</sub> vetétkedik a mintában jelenlevő (méréndő) jelzetlen DHEA-SO<sub>4</sub>-tal a korlátozott számú antitest köztöhelyekért. A reakció lejtészdása alatt a reaktív kémcső az antitesthez kötött antigént megköti. A bevont cső felületén lévő jelzett antigén radioaktivitása, amely fordítottan arányos a minta DHEA-SO<sub>4</sub> koncentrációjával, gamma-számlálóval mérhető. A standardok relatív kötésiértékei és koncentrációi ismeretében szerkesztett mérő-(standard) görbéről, a minták relatív kötésiértékei alapján, azok DHEA-SO<sub>4</sub> koncentrációja meghatározható.

### A készlet tartalma

1 <sup>125</sup>I-TRACER, felhasználásra kész, 55 üveg ml; 0,1% nátrium-azid tartósítóval, radioaktivitása <275 kBq.

1 ANTISZÉRUM, felhasználásra kész, 55 ml; 0,1% nátrium-azid tartósítóval.

6 STANDARD<sub>(1-6)</sub>, felhasználásra kész humán szérum 0,1% nátrium-azid tartósítóval. 6\*0,5 ml, koncentrációjuk: 0 (S<sub>1</sub>), 0,3 (S<sub>2</sub>), 1 (S<sub>3</sub>), 3 (S<sub>4</sub>), 10 (S<sub>5</sub>), 30 (S<sub>6</sub>) µmol/l.

1 ELLENŐRZŐ SZÉRUM, liofilizált üveg humán szérum, rekonstituálandó 0,5 ml desztillált vízzel.

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

1 db Minőségellenőrzési bizonylat.

1 db Használati utasítás.

### A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

kémcsőtartó, rugalmas kémcsőörgőtő kiképzésben  
automata pipetták, 10 és 500 µl-es térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel  
örvénykeverő (vortex)  
rázógép vagy orbitális keverő  
kémcsőzáró műanyag fólia  
papírvatta vagy itatóspapír  
gamma-számláló

### Ajánlott:

sorozat-adagoló pipetta 500 µl-es térfogatra

### A minták gyűjtése és tárolása

A vizsgálandó szérummintákat a más, ugyan-csak szérumot igénylő laboratóriumi vizsgálatoknál követett módon készítjük el. Amennyiben a DHEA-SO<sub>4</sub>-meghatározás a mintavételt követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat +2-+8°C-on, későbbi felhasználás esetén -20°C-on mélyhűtve tartjuk.

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

### A reagens előkészítése, tárolása

A készlet komponensei felnyitás előtt és után +2-+8°C között tárolhatók a lejáratú időn belül. A standard, az antiszérum és a tracer oldat felhasználásra kész. A liofilizált normál ellenőrző szérumot oldjuk fel 500 µl desztillált vízben. Az így elkészített oldat DHEA-SO<sub>4</sub> koncentrációját a kísérő minőségi bizonylat tartalmazza. **Megjegyzés:** a reagenst csak a felhasználás előtt oldjuk. A feloldás után legalább 20 percig ne használjuk fel. A tökéletes oldást ajánlatos enyhé rázogatással vagy vortex keverővel elősegíteni.

Mérés előtt hagyjuk az összes reagenst szobahőmérsékletre melegedni (kb. 1 óra). Felhasználás előtt a mintákat és az összes reagenst alaposan homogenizáljuk, de kerüljük el a habzást.

### A meghatározás menete

(ld. folyamatábra, 1. táblázat)

- Jelöljük meg két-két műanyag csövet az alábbi célra:  
összes beütésszám (T) standard (S<sub>1-6</sub>)(S<sub>1</sub> = B<sub>0</sub>) ellenőrző szérum (C) vizsgálandó minták (M<sub>x</sub>)
- Mérjük 10 µl STANDARDot (S<sub>1-6</sub>), illetve ELLENŐRZŐ SZÉRUMot (C), és szérummintát (M<sub>x</sub>) a megfelelő csövekbe.
- Mérjük minden csőbe 500 µl <sup>125</sup>I-TRACER oldatot.
- Mérjük minden csőbe 500 µl ANTISZÉRUM oldatot, kivéve a T jelű csöveket. A kinetikus effektus kiküszöbölése érdekében az utolsó reagens hozzáadásának időtartamát a lehetséges minimumra kell szorítani. Általános szabályként ez a lépés öt percnél ne legyen hosszabb. Ez célszerűen sorozat-adagoló pipettával biztosítható.
- A csöveket fedjük le légmentesen műanyag fóliával.
- Helyezzük a kémcsöveket rögzítő kémcsőtartó állványba, a T jelű csövek kivételével. Erősítsük fel az állványt a rázógépre, vagy az orbitális keverőre, úgy, hogy az biztonságosan rögzítve legyen.
- Indítsuk el a keverést, és állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen (min. 600 rpm ajánlott). Kevertessük ezzel a beállítással 1 órán keresztül szobahőmérsékleten.
- A csőtartót fejfelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülűszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 5 percig. Győződjünk meg arról, hogy a cső peremén nem maradtak folyadékcseppek.
- Mérjük meg az egyes csövek radioaktivitását gamma-számlálóval, legalább 1 percig.
- Számítsuk ki az eredményeket a következő fejezet szerint.

**1. táblázat:** A vizsgálat folyamatábrája (az adatok mikro-literben értendők)

Reagens	T	S <sub>1-6</sub>	C	M <sub>x</sub>
Standard		10		
Ellenőrző szérum			10	
Minták				10
Tracer	500	500	500	500
Antiszérum		500	500	500
Gépi kevertetés 1 órán át szobahőmérsékleten.				
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron min. 5 percig.				
Radioaktivitás-mérés (legalább 60 másodperc/cső)				
Adatfeldolgozás				

## Az eredmények számítása

Számítsuk ki a párhuzamos csövek beütésszámának középértékét. Számítsuk ki a  $B_0/T$ -t az alábbi egyenlettel:

$$B_0/T \% = 100 * S_1(\text{cpm}) / T(\text{cpm})$$

(Ez az érték a mérés egyik minőségi mutatója, amelynek kiszámítása a minta-koncentrációk meghatározásához nem feltétlenül szükséges.) Számítsuk ki a standardok, az ellenőrző szérum és a minták kötési százalékát az alábbi egyenlettel:

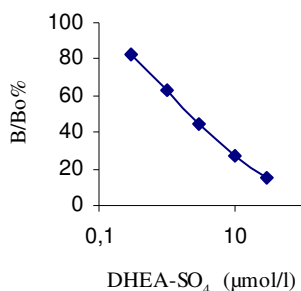
$$B/B_0 \% = 100 * S_{2-6} ; C ; M_x(\text{cpm}) / S_1(\text{cpm})$$

Nem specifikus kötést (NSB) - mivel kisebb, mint 3% - az adott készletben nem mérünk. Egy jellegzetes mérési adatsort foglal össze a 2. táblázat. Ábrázoljuk a standardokra mért beütésszámból számított  $B/B_0\%$  értékeket a standard koncentrációjának függvényében (lásd az 1. ábrát). Az így kapott standardgörbéről (mérőgörbéről) olvassuk le a vizsgált minta  $B/B_0\%$  értékeihez tartozó DHEA- $SO_4$  koncentrációit,  $\mu\text{mol/l}$  mértékegységben.

2. táblázat: Jellemző mérési adatok

Csővek	Beütés CPM1	Beütés CPM2	Átlag CPM	B/T %	B/B <sub>0</sub> %
T	79631	80972	80301		
S <sub>1</sub>	69071	69564	69317	86,3	100
S <sub>2</sub>	57468	56881	57174	71,2	82,5
S <sub>3</sub>	43593	44028	43810	54,6	63,2
S <sub>4</sub>	31210	30921	31065	38,7	44,8
S <sub>5</sub>	18960	18413	18686	23,3	26,9
S <sub>6</sub>	10912	10280	10596	13,2	15,3
C	24014	24225	24119	30,0	34,8

1. ábra Jellemző standardgörbe (mintamérésre nem használható)



A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("online") számítógépes adatfeldolgozást is.

## Minőségi jellemzők

### Az assay jellemző paraméterei

Jellemző	Érték
NSB/T%	< 3
$B_0/T\%$	78 - 96
ED-50	1,4 - 3,2 $\mu\text{mol/l}$
kimutatási határ	0,064 $\mu\text{mol/l}$

### Specifititás

A specifitás megállapításához a 0 koncentrációjú standardunkhoz két koncentrációban különböző endogén hormonokat adagoltunk, majd mértük a látszólagos DHEA- $SO_4$  koncentrációt.

**Keresztreakciók:** az A és B oszlopban a DHEA- $SO_4$  látszólagos koncentrációja ( $\mu\text{mol/l}$ ) látható.

Jelölések: b=detektálási limit alatt. Bemért hormon-koncentrációk: **A=70, B=700 nmol/l**.

ANYAG	A	B	ANYAG	A	B
Aldoszteron	b	b	Kortizol	b	b
Androszténdion	b	0,1	Ösztriol	b	b
5 $\alpha$ -Dihidro-tesztoszteron	b	b	Ösztrolon	b	b
5 $\beta$ -Dihidro-tesztoszteron	b	b	Progeszteron	b	b
Androsztándiol	b	b	Pregnenolon	b	b
17 $\alpha$ -hidroxiprogeszteron	b	b	Tesztoszteron	b	b
Androszténdiol	b	b	DHEA	0,15	2,29

**megjegyzés:** mivel a DHEA fiziológiás tartománya 13-24 nmol/l (irodalmi adat), a keresztreakcióból adódó torzulás elhanyagolható.

## Pontosság és reprodukálhatóság

Az intra-assay pontosságot 20 párhuzamossal egy sorozaton belül, az inter-assay pontosságot 2 párhuzamossal, 22 független mérésben értékelve az alábbi adatokat kaptuk.

Intra-assay		Inter-assay	
Átlag ( $\mu\text{mol/l}$ )	CV%	Átlag ( $\mu\text{mol/l}$ )	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

## Addíciós teszt

A mérés során 5 db egyedi humán szérum mintába ismert mennyiségű standard antigént vitünk be három különböző koncentrációban és vizsgáltuk a kiindulási és a megemelkedett koncentráció szinteket. Az átlag visszanyerés 103,5% volt (96,8% - 108,6%).

## Hígítási teszt

Egyedi szérumminták  $S_0$  standarddal végzett sorozat-hígításakor a várt (x) és a mért (y) koncentrációértékek között az alábbi lineáris összefüggés adódott:

$$y = 0,9854x - 0,0613 \quad R^2 = 0,9988 \quad n = 30$$

## Várható referens tartomány ( $\mu\text{mol/l}$ )

Férfiak			
N	Korosztály	Középérték	95%-os tartomány
100	18 - 30 év	10,1	3,8 - 17,5
100	31 - 50 év	6,7	3,0 - 14,2
50	51 - 60 év	5,2	1,6 - 11,3
27	> 60 év	2,1	0,7 - 8,1

Nőkben			
N	Korosztály	Középérték	95%-os tartomány
100	18 - 30 év	6,22	2,1 - 12,8
100	31 - 50 év	4,89	1,5 - 11,5
50	51 - 60 év	2,95	0,5 - 8,9
17	> 60 év	2,75	0,4 - 5,9

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

## Egyéb tudnivalók

### Átszámítás az SI mértékegységről

$$1 \mu\text{mol/l} = 0,37 \mu\text{g/ml}$$

$$1 \mu\text{g/ml} = 2,71 \mu\text{mol/l}$$

**Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó DHEA- $SO_4$  készletének komponenseivel!**

## Biztonsági óvrendszabályok

### Radioaktivitás
















A készlet radioaktív anyagot tartalmaz. A felhasználó laboratóriumok felelőssége, hogy munkájuk során a radioaktív anyagok tárolására, felhasználására, és kezelésére vonatkozó törvényi szabályozás és hatósági előírások szerint járjanak el.

### Fertőzésveszély

A kitben levő humán szérumot tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérum HIV-Ab, HBsAg, Hepatitisz-C antitest és Treponema antitest 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 115 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 reagenseket nagy mennyiségű vízzel öblítve jutassuk a csatorna hálózatba.

	Lejárat idő		Gyártási szám
	2-8°C-on tárolandó		Kontrol
	Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok		Standard
	Biológiai veszély		Bevont Cső
	Lásd használati utasítást		Tracer
	In vitro diagnosztikai eszköz		Antiszérum
	Gyártó		Radioaktív anyag
	Katalógus szám		



WEB oldal: <http://www.izotop.hu>

Technikai e-mail: [immuno@izotop.hu](mailto:immuno@izotop.hu)

Kereskedelmie-mail: [commerce@izotop.hu](mailto:commerce@izotop.hu)

**IZOTOP**

IZOTÓP INTÉZET Kft.

1535 Budapest, Pf.: 851.

Tel.: 392-2577, Fax: 395-9247