

# RADIOIMMUNO- ÉS ENZIMIMMUNO-ANALÍZIS ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA PROGESZTERONHORMON MEGHATÁROZÁSÁRA JUHVÉRPLAZMÁBAN ÉS -TEJBEN

Mézes Miklós\*, Tóth Géza\*\*

\*Agrártudományi Egyetem, Állatélettani és Állategészségtani Tanszék,  
Gödöllő, 2100

\*\*Az MTA Izotópkutató Intézete, Budapest, Pf. 77, 1525

(Érkezett 1988. május 17-én)

## BEVEZETÉS

A szteroidhormonok mennyiségi meghatározására a korábbi klasszikus kémiai módszerek mellett a jelenlegi rutindiagnosztikai gyakorlatban az immunanalitikai módszerek terjedtek el. A radioimmunanalízis (RIA) esetében radioaktív izotóppal - elsősorban  $^3\text{H}$ -mal és  $^{125}\text{I}$ -dal-jelölt vegyületeket, míg az enzimumanalízis (EIA) során valamely könnyen mérhető enzimmal, pl. torma-peroxidázzal, foszfatázokkal jelölt vegyületeket alkalmaznak.

A két módszer érzékenysége számottevően nem tér el egymástól. Az érzékenységet elsősorban az immunreakció során alkalmazott ellenanyag határozza meg.

Jelen vizsgálat célja az volt, hogy a hazai állatorvosi gyakorlatban alkalmazott kétféle progeszteronmérési módszer összehasonlító vizsgálatát elvégezzük.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

A RIÁ-hoz az MTA Izotópkutató Intézet által kifejlesztett  $^{125}\text{I}$ -progeszteron-RIA készletet alkalmaztuk. A jelölt vegyület ebben az esetben  $^{125}\text{I}$ -progeszteron-szukcinil-tirozin-metilészter volt<sup>1</sup>. Az aktivitást  $^{125}\text{I}$  mérésére kifejlesztett gamma-számlálóval (RIA Test, MTA Izotópkutató Intézete, Budapest) mértük.

Az EIA-hoz a Humán Oltóanyagtermelő és Kutatóintézet által kifejlesztett progeszteronkészletet (Enzaklon-Prog) alkalmaztuk. A jelölt vegyület ebben az esetben progeszteron-torma-peroxidáz konjugátum volt<sup>2,3</sup>. Az enzimaktivitást végpontos mérssel, p-fenilén-diamin és hidrogén-peroxid jelenlétében határoztuk meg.

A vérplazmamintákat eltérő szaporodásbiológiai állapotu magyar fésüsmerinó fajtájú anyajuhokból nyertük, és alvadásgátlóként EDTA-Na<sub>2</sub>-t alkalmaztunk (0,2 mol/l - 0,05 ml/ml vér). A vérplazmamintákat a meghatározásig -20°C-on tároltuk. A progeszteronmeghatározás előtt a mintákat extraháltuk a várható érték alapján pufferrel higitott állapotban frissen desztillált, peroxidmentesített dietiléterrel. Az éteres fázist 40°C-on vákuumban bepároltuk, és az extraktumot assay pufferben vettük fel. A meghatározás során kétszeres mennyiségű plazmamintát extraháltunk, és az extraktumot kétfelé osztva azonos módon végeztük el a bepárlást.

A tejmintákat kézi fejéssel, különböző szaporodásbiológiai állapotu hazai fésüsmerinó juhanyáktól nyertük. Tartósítószerként kálium-bikromátot alkalmaztunk 0,5 mg/5ml tej mennyiségben. A mintákat a meghatározásig (maximum - 10 nap) 4°C-on tároltuk. A meghatározás előtt a tejmintákat háromszoros centrifugálással zsirmentesítettük, és azonos mintából végeztük el a meghatározást. Az EIÁ-nál a tej saját peroxidáz- (laktoperoxidáz-) aktivitásának eliminálása érdekében a mintákat 30 percig assay pufferben 80°C-on inkubálni kell. A mérés pontossága és a hőmérsékleti hatásokból eredő hibák kiküszöbölése érdekében a fent jelzett előinkubációt a RIA alkalmazása előtt is elvégeztük.

A standard eredményeket logit-log transzformációval értékeltük ki. A két módszer összevetésére lineáris korreláció- és regressziószámítást végeztünk<sup>4</sup>.

## EREDMÉNYEK

A két módszer igen szoros korrelációs értéket mutat ( $r = 0,97$ ) (1. táblázat és 1. ábra). Az intraassay hiba a RIÁ-nál 8,2, az EIÁ-nál 9,1%-nak adódott.

A tejprogeszteron meghatározási eredményei is igen szoros korrelációs értéket ( $r = 0,96$ ) mutattak (2. táblázat és 2. ábra). Az interassay-hiba a RIA esetén 12,5, az EIA esetében 18,7% volt. A két módszerrel mért progeszteron-szintek korrelációját az 1-2. ábrán mutatjuk be.

## MEGBESZÉLÉS

A kétféle módon végzett progeszteronmeghatározás eredményei összevethetők az igen szoros korrelációs értékek alapján. A mért intraassay hiba a vérplazma esetében elfogadható, a tej esetében azonban nagynak tűnik, amelynek oka véleményünk szerint a minta homogenitásában keresendő. Csak ennek figyelembevételével lehet az eredményeket megfelelőképpen értékelni. Ennek alapján javasolható 3, sőt több párhuzamos mérés tejminták esetében. Eredményeink a vérplazma vonatkozásában egyezést mutatnak egy korábbi hazai vizsgálatával, ahol humán vérplazmaminták progeszterontartalmát határozták meg RIÁ-val, illetve EIÁ-val, és szoros korrelációt kaptak<sup>3</sup>. A tej esetében hazai adatok nem álltak rendelkezésre.

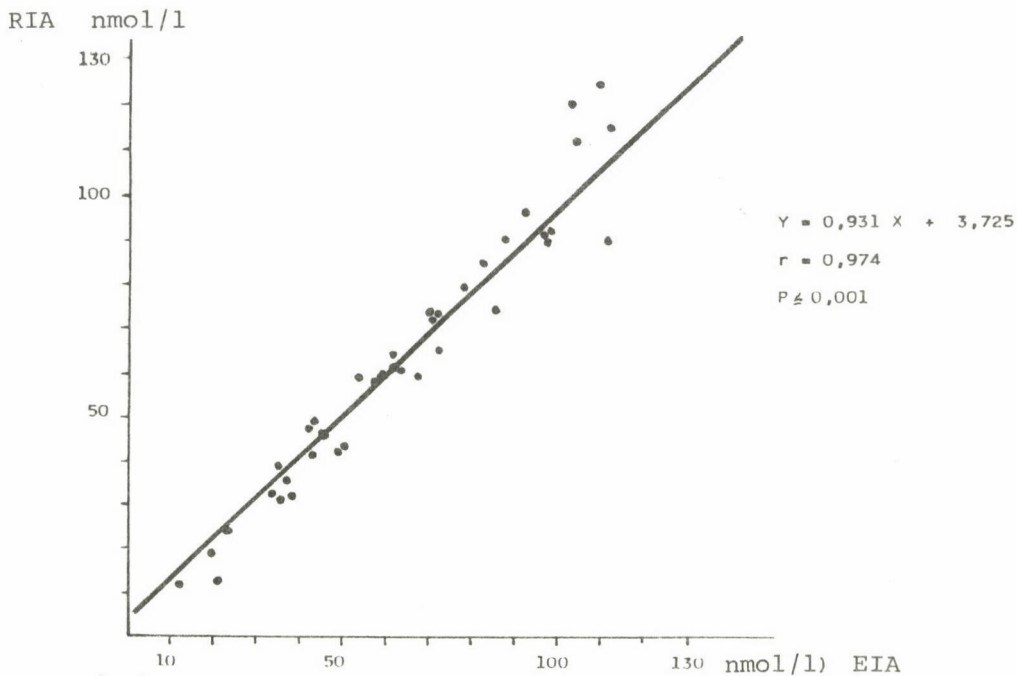
## 1. táblázat

Vérplazma progeszteronhormon-tartalma radioimmun-, illetve enzimimmunanalízissel meghatározva

Содержание гормона прогестерона кровяной плазмы, определенное с помощью радиоиммунологического и энзимиммунологического анализа

Progesterone hormone content of blood plasma, determined with radioimmuno- and enzyme immunoassay, resp.

Mintaszám	RIA Progeszteron (nmol/l)	EIA Progeszteron (nmol/l)	Mintaszám	RIA Progeszteron (nmol/l)	EIA Progeszteron (nmol/l)
1	23,15	22,53	21	59,30	52,34
2	60,00	59,37	22	57,80	57,03
3	39,00	34,18	23	42,75	48,43
4	49,50	42,50	24	79,60	77,50
5	120,15	102,15	25	61,55	61,09
6	90,70	86,40	26	43,50	49,37
7	72,85	70,62	27	92,40	97,18
8	118,90	112,96	28	65,30	71,25
9	116,40	111,71	29	92,00	96,09
10	72,90	71,28	30	60,80	61,71
11	32,20	33,15	31	112,65	103,12
12	32,59	37,50	32	74,35	84,68
13	96,00	91,56	33	90,50	110,62
14	11,40	11,56	34	73,60	70,62
15	48,00	41,25	35	90,70	96,09
16	31,45	35,15	36	64,55	61,09
17	84,85	81,56	37	60,00	66,59
18	12,65	20,15	38	42,00	42,03
19	18,70	19,37	39	46,50	44,68
20	35,35	35,93	40	124,70	108,43



1. ábra

Radioimmunassay-vel és enzimimmunoassay-vel meghatározott progeszteron-szintek korrelációja vérplazmánál

Корреляция между концентрациями прогестерона в кровяном плазме, определенными с радиоиммунологическим и энзимиммунологическим анализом

Correlation of progesterone concentrations in blood plasma, determined with radioimmunoassay and enzyme immunoassay, resp.

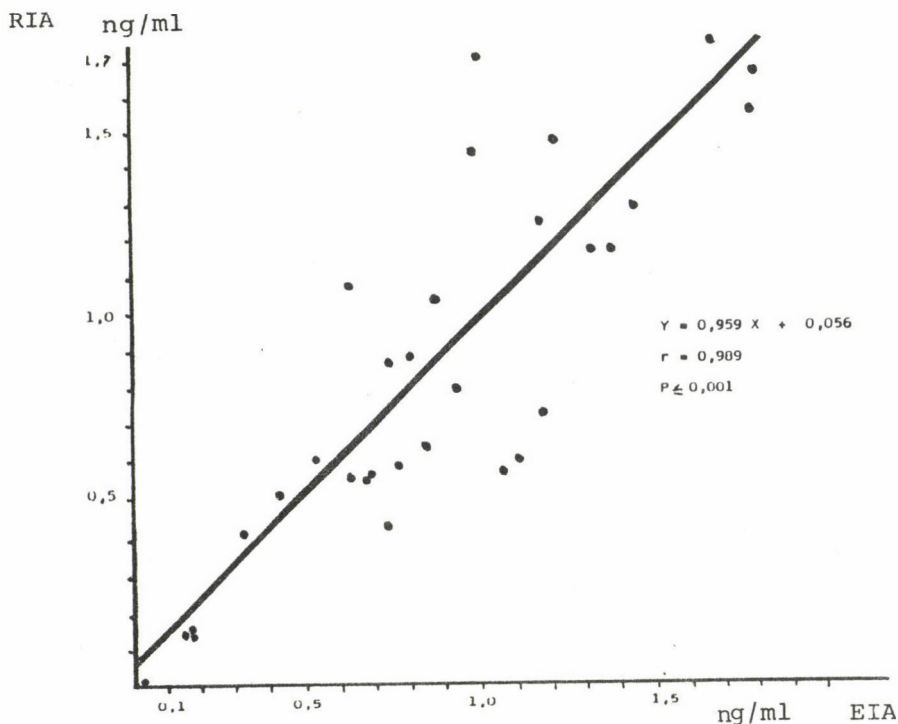
## 2. táblázat

Juhtej progeszteronhormon-tartalma radioimmun-, illetve enzimmunanalízissel meghatározva

Содержание гормона прогестерона в овечьем молоке, определенное с помощью радиоиммунологического и энзимиммунологического анализа

Progesterone hormone content of sheep milk, determined with radio-immuno- and enzyme immunoassay, resp.

Mintaszám	RIA Progeszteron (ng/ml)	EIA Progeszteron (ng/ml)	Mintaszám	RIA Progeszteron (ng/ml)	EIA Progeszteron (ng/ml)
1	0,151	0,16	21	1,45	0,96
2	1,26	1,156	22	1,08	0,61
3	1,73	0,98	23	0,59	0,58
4	1,58	1,90	24	0,73	1,15
5	0,008	0,01	25	0,41	0,31
6	0,66	0,55	26	1,18	1,36
7	1,58	1,76	27	0,51	0,41
8	1,04	0,86	28	0,87	0,72
9	0,15	0,14	29	0,60	0,52
10	1,39	1,19	30	1,30	1,42
11	1,69	1,76	31	0,80	0,92
12	0,15	0,16	32	1,18	1,30
13	0,018	0,020	33	1,04	0,97
14	0,43	0,72	34	0,66	0,55
15	0,56	0,67	35	0,56	0,67
16	0,60	1,09			
17	0,64	0,83			
18	0,59	0,75			
19	0,56	0,61			
20	0,89	0,79			



Radioimmunoassay-vel és enzimmunoassay-vel meghatározott progeszteronszintek korrelációja juhtejnél

Корреляция концентраций прогестерона в овечьем молоке, определенных с радиоиммунологическим и энзимиммунологическим анализом

Correlation of progesterone concentrations in sheep milk, determined with radio- and enzyme immunoassay, resp.

kezésünkre, a szakirodalomban is csak igen kevés, szarvasmarhatejre vonatkozó összehasonlító vizsgálati eredmény volt fellelhető<sup>5,6</sup>. Eredményeik szerint a RIA és az EIA összevetésekor a korrelációs érték 30 minta alapján 0,89 volt. Az intraassay-hiba a fent jelzett munkában is igen nagy (20,2%) volt<sup>7</sup>.

Összességében megállapítható, hogy mind a RIA, mind az EIA módszer alapján mért progeszterontartalom megfelel az irodalmi adatoknak, és a két módszerrel kapott eredmények összevethetők.

## IRODALOM

1. Tóth G., Wéber M., Kling F., Adsorption Chromatographic Separation of (<sup>125</sup>I) Progesterone-succinyl-tyrosine Methyl Ester, *J. Chromatogr.* 213 (1981) 511
2. Solti L., Molnár L., Ács J., Varró V., Huszenicza Gy., Csernus V., Egyszerű és gyors progeszteron meghatározás új hazai enzimimmún módszerrel, *M. Állatorv. L.* 39 (1984) 47
3. Barna-Vetró I., Pejtsik B., Olajos F., Progeszteron meghatározás EIA módszerrel, *Labordiagnosztika* 14 (1987) P 12
4. Sváb J., Biometriai módszerek a mezőgazdasági kutatásban, *Mezőgazdasági Kiadó, Budapest*, 1973
5. J. Küster, W. Holtz, Progesteronbestimmung in Kuhmilch: Verleich der Ergebnisse des RIA-Milchfett und EIA-Direkttests, *Zuchthyg.* 20 (1985) 34
6. K.I. Arngtadt, W.F. Cleere, Enzyme Immunoassay for Determination of Progesterone in Milk from Cow., *J. Reprod. Fert.*, 62 (1981) 173
7. M. Döbeli, B. Schwander, Trachtigkeitsdiagnose in Schafkunde an Hand dreimaliger Progesteronbestimmung in Blutplasma, *Zuchthyg.* 20 (1985) 192

\*

A szerzők juh vérplazma és tej progeszteron tartalmát határozták meg radioimmuno (<sup>125</sup>I) és enzimimmuno (tormaperoxidáz) analizissel. Megállapították, hogy a két módszer eredményei összevethetők. A korrelációs érték vérplazma esetében  $r=0,974$ , míg a tej esetében  $r=0,909$  volt.

СОПОСТАВЛЕНИЕ РАДИОИММУНОЛОГИЧЕСКОГО И ЭНЗИМИММУНОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗОВ, ПРИМЕНЕННЫХ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГОРМОНА ПРОГЕСТЕРОНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ И МОЛОКЕ ОВЦЫ  
Мезеш, М., Тот, Г.

Авторы исследовали содержание прогестерона в плазме крови и молоке овцы радиоиммунологическим и энзимиммунологическим методом. Установилось, что результаты показывают хорошую корреляцию ( $r=0,974$  в плазме и  $r=0,909$  в молоке).

COMPARISON OF RADIOIMMUNOASSAY AND ENZYME-IMMUNOASSAY APPLIED FOR DETERMINING PROGESTERONE HORMONE IN SHEEP BLOOD PLASMA AND MILK.  
Mézés, M., Tóth, G.

The authors investigated the progesterone content of sheep blood plasma and milk using radioimmunoassay (<sup>125</sup>I) and enzyme-immunoassay (horseradish-peroxidase). It was found that the results after using the two different methods are comparable. The coefficient of correlation was  $r=0.974$  in the case of blood plasma and  $r=0.909$  in the case of milk, respectively.