

PSA [¹²⁵I] IRMA készlet (REF: RK-10CT)

A PSA [125I] IRMA készlet humán szérum prosztata specifikus antigén (PSA) tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0 - 50 ng/ml mérési tartományban.

Bevezetés

A PSA (Prostate Specific Antigen) körülbelül 30 kDa molekulatömegű, 237 aminosavból álló egyláncú glikoprotein. Szerkezete hasonló a tripszinszerű kallikreinekhez, enzimaktivitását tekintve a kimotripsinnel analóg, szerin-proteáz. Keletkezése szövet-specifikus, a prosztata termeli, az ondó nagy koncentrációban tartalmazza. Proteáz-aktivitásának az ondó elfolyósításában funkcionális szerepet tulajdonítanak.

A vérben levő PSA 70-95%-a α_1 -antikimotripsinhez kötött formában van jelen. Mind malignus prosztata karcinóma, mind benignus prosztata hiperplazia esetében a vér PSA szintje megnő, de malignus prosztata karcinóma esetében a komplex, míg benignus prosztata hiperplazia esetében a szabad PSA szint emelkedése figyelhető meg a vérben.

A total PSA koncentrációjának meghatározása nélkülözhetetlen módszer a prosztata karcinóma diagnosztikájában, a stádium meghatározásában és a terápia-követésben. Jelen IRMA-készlet kiemelendő tulajdonsága, hogy a szabad PSA-PSA-ACT molekuláris formákat ekvimolárisan méri, érzékenysége pedig kiemelkedő (< 0,01 ng/ml), így különösen alkalmas terápia-követésre.

A mérés elve

A mérőkészlet a szilárd fázisú immunoradiometrikus assay (IRMA) működési elvét alkalmazza. Ehhez két olyan monoklonális antitest szükséges, amelyek a molekula két különböző epitopját ismerik fel. Az egyik antitest radiojóddal jelzett (jelző antitest), a másik jelöletlen (ún. "capture" antitest).

A bevonat csöves rendszerek jelen változatában az antigénnek a két antitesttel kialakult immunkomplexe ("szendvics") a reaktív kémcső felületén mint szilárd fázison kötődik meg. A 2 órás reakcióidőt követően a reakcióelegyet a kémcsőből kiöntjük, és pufferes mosás után gamma-számlálóval mérjük a radioaktivitást. A kémcsövekben mért radioaktivitás egyenesen arányos a rendszerben lévő hormon koncentrációjával. Az ismert koncentrációjú standardok kötési értékei alapján szerkesztett kalibrációs görbéről az ismeretlen minták koncentrációit kötési értékeik alapján visszaolvassuk.

A készlet tartalma

- 1 flakon ¹²⁵I-TRACER (21 ml), pufferes oldat radioaktivitása <740kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.
- 6 üveg STANDARD (6 x 1 ml), 0,1 % Kathon CG tartósítósóval. Koncentrációjuk (S₀ - S₅): 0, 0,1, 0,5, 2, 10, 50 ng/ml. (WHO ECBS 96/670-re kalibrálva).
- 1 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM 1,0 ml humán szérum, 0,1 % Kathon CG tartósítósóval.

Koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

4. 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt műanyag dobozban.

5. MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM, (20 ml), 0,1 % nátrium-azid tartósítósóval, 700 ml desztillált vízzel hígítandó.

1 db Minőségellenőrzési bizonylat
1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcső rögzítő kiképzésben; pipetták (0,1, 0,2 és 2 ml térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel); rázógép; kémcsőzáró műanyag fólia; papírvatta vagy itatóspapír; gamma-számláló

Ajánlott:

Sorozat-adagoló (ismétlő) pipetta; folyadéküveges leosztó (diszpenzer), 1 literes folyadékedénnyel, 2 ml adagolási térfogatra

A mérendő minták gyűjtése és tárolása

Amennyiben a PSA meghatározás a mintavételt követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat 2-8°C -on, későbbi felhasználás esetén -20°C -on mélyhűtve tartjuk. A fagyasztott mintákat hagyjuk felolvadni, és felhasználás előtt alaposan homogenizáljuk.

A reagensek előkészítése, tárolása

A mosóoldat koncentrátumot öntsük hozzá 700 ml desztillált vízhez. A hígított mosóoldatot 2-8°C -on tároljuk a készlet lejárataig.

A készlet többi komponense az első felnyitást követően 2-8°C -on tárolható a készlet lejárati idején belül. A pontos lejárati idő a kísérő bizonylaton és a dobozcímkén van feltüntetve.

A meghatározás menete

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

1. Jelöljük meg két-két csövet: összes beütésszám (T), standard (S₀-S₅), ellenőrző szérum (C); vizsgálandó minták (M).
2. Mérjük 100 µl STANDARDot, ill. ELLENŐRZŐ SZÉRUMOT, és szérummintát a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csőbe 200 µl TRACER oldatot.
4. Helyezzük a csöveket rögzítés kémcsőtartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 2 órán át szobahőmérsékleten.
5. Adjunk minden csőhöz 2 ml mosópuffert, majd a csőtartót fejfelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülúszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.

6. Ismételjük meg a mosási lépést kétszer, az 5. pontnak megfelelően.
7. Mérjük meg a csövek radioaktivitását gamma-számlálóval és számítsuk ki az eredményeket az alábbiak szerint.

1. Táblázat Folyamatábra, pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

	T	S0-S5	Ell. szérum	M
Standard		100		
Ell. szérum			100	
Minta				100
Tracer	200	200	200	200
Kevertetés, 2 óra szobahőmérsékleten				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Radioaktivitás mérés (min. 60 sec/cső)				
Adatfeldolgozás				

Az eredmények számítása

A számítás menetét jellemző mérési adatokkal szemléltetjük. A kapott számadatoknak, és a kalibrációs görbének hasonlítaniuk kell a 2. táblázathoz, illetve az 1. ábrához.

Számítsuk ki a párhuzamos csövek beütésszámainak középértékét.

Log-log papíron ábrázoljuk a standard koncentrációkhoz tartozó átlag cpm értékeket.

Olvaszuk le a mérendő minták koncentrációit a standard görbéről az átlag cpm értékek alapján.

Egyes adat-kiértékelésekhez, rendszerint minőségellenőrzési célból, szükség lehet a specifikus kötési értékekre. Erre a B/T értékek használhatók, amelyek számításához a standardok, illetve minták NSB-vel (azaz az S₀ beütésszámával) korrigált értékeit osztjuk a totál aktivitással az alábbi egyenlet szerint:

$$B/T (\%) = \frac{S1-5/C/Mx/(\text{cpm}) - S0(\text{cpm})}{T(\text{cpm})} \times 100$$

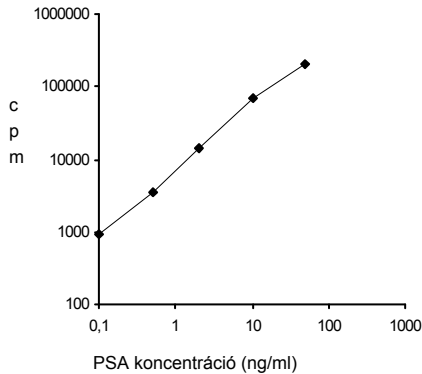
Egy jellegzetes mérési adatsort foglal össze a 2. táblázat, míg az 1. ábra egy jellemző standard görbét mutat.

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("on-line") számítógépes adatfeldolgozást is. A sokféle feldolgozó program közül jelen kézikönyvhez speciálisan immunometrikus assay-re kifejlesztett spline illesztő program használatát javasoljuk. Ügyeljünk arra, hogy vannak olyan kiértékelő programok, amelyek a 0-standard és az első standard között is interpolálnak, de a számított koncentrációk közül csak azok tekinthetők valósak, amelyek értéke magasabb, mint a mérés statisztikailag meghatározott kimutatási határa (ld. érzékenység).

2. Táblázat Jellemző mérési eredmények

Csővek	Beütés-szám cpm	Átlag cpm	B/T%
T	289919 290999	290459	-
S0	207 176	192	0,07
S1	1092 1108	1100	0,31
S2	3760 3823	3792	1,24
S3	14708 14609	14659	4,98

S4	68462 67132	67797	23,28
S5	205437 207898	206668	71,09
C	30697 30852	30775	10,53



1. ábra
Tipikus standard görbe,
(Minta-meghatározásra nem használható!)

Minőségi jellemzők

Az assay jellemző paraméterei

NSB/T: < 0,3 %

Specifitás

A készletben alkalmazott monoklonális antitestek keresztreakciója human PAP-ra, illetve human kallikreinekre vizsgálva kisebb, mint 0,04 %.

Érzékenység

Jelen készlettel az analitikai érzékenység a 0-standarddal 15 párhuzamos mérésből meghatározva 0,003 ng/ml. Értéke egyenlő a 0-standard B0+2*SD kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

A készlet funkcionális érzékenysége kisebb 0,068 ng/ml. Meghatározása alacsony PSA tartalmú szérumból 15 független mérés-sorozatban kapott inter-assay imprecíziós profiljából történt, értéke egyenlő az imprecíziós görbe 22 %-os metszéspontjához tartozó PSA koncentrációval

Hígítási teszt (linearity)

Egyedi szérumból S₀ standarddal végzett sorozat-hígításakor a várt (x) és a mért (y) koncentrációértékek között az alábbi lineáris összefüggés adódott:

$$Y = 1,0075 x + 0,0159 \quad R = 0,9999 \quad n = 10$$

Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 1400 ng/ml alatt nem jelentkezik. Bármely mintának, amelynek koncentrációja a 50-1400 ng/ml tartományba esik, ezzel a készlettel mérve, a koncentrációját több mint 50 ng/ml-nek fogjuk találni.

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 15 párhuzamosan egy sorozaton belül, az inter-assay pontosságot 2 párhuzamosan, 15 független mérésben értékelve, 4 mintára az alábbi adatokat kaptuk.

Intra-assay		Inter-assay	
átlag (ng/ml)	CV %	átlag (ng/ml)	CV %
0,067	4,5	0,068	7,0
0,619	2,7	0,622	3,2
3,773	1,7	3,852	2,7
21,384	1,6	21,821	2,7

Várható referens tartomány

Egészséges felnőtt férfiak esetében:
< 3,0 ng/ml

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

Az assay korlátai

- A készletben található komponensek szérumban történő PSA mérésre optimalizáltak.
- Kerüljük a minták ismételt visszafagyasztását.
- Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumból ne használjunk mérésre.
- A mérések eredményét más ide vonatkozó klinikai eredményekkel együtt használjuk fel.

Megjegyzések, tanácsok

1) **Figyelem, hibaforrás!** A bevont kémcsövek nem tartalmaznak külön feliratot. Közöséges kémcsövekkel való összetévesztésük komoly mérési hibákhoz vezethet! Ennek elkerülésére a műanyag dobozból soha ne vegyünk ki többet a szükséges mennyiségnél, illetve a felhasználatlan kémcsöveket azonnal tegyük vissza eredeti tartódobozukba. Ha az összekeverés veszélye a feldolgozás alatt is fennáll, célszerű a bevont csöveket más módon is megjelölni (pl. üvegre író tollal "meggyűrűzni").

2) **Figyelem, hibaforrás!** Kevertetésre csak olyan kémcsőtartó használható, amelyben a csövek rögzítve vannak. "Lötyögős" állványban a kémcsövek tartalma egyáltalán nem, vagy egyenetlenül keveredik, annak ellenére, hogy maga az állvány, és a kémcső mozgásban van. Egyetlen, illetve tökéletlen keverés teljesen hamis (fals alacsony!) mérési eredményekhez vezethet!

3) **A mosópuffer adagolása.** A mosópuffer legcélszerűbben hajlékony kivezető csővel felszerelt diszpenzerekből adagolható, amelyhez legalább 800 ml-es folyadék-edény csatlakozik. A hajlékony csővéggel az asztalon fekvő kémcsőállvány fölé végighaladva a mosópuffer hozzáadása gyors és hibamentes. Diszpenzer hiányában kellően nagy térfogatú fecskendővel ellátott ismétlő pipetta használható.

Egyéb tudnivalók

Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó PSA készletének komponenseivel.

Biztonsági óvórendszabályok

Radioaktivitás

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










Fertőzésveszély

A készletben lévő humán szérumból tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérumból HIV-Ab és HBsAg vizsgálatra negatív eredményt adott. Ennek ellenére a humán szérumból tartalmazó komponenseket potenciálisan fertőzőként kell kezelni, és az erre vonatkozó általános laboratóriumi higiénés szabályokat be kell tartani.

Mérgező anyagok

A készlet egyes komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma 41 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 reagentákat nagy mennyiségű vízzel öblítve juttassuk a csatornahálózatba.

A standardok és az ellenőrző szérumból tartósítására Kathon CG-t alkalmazunk. A készlet összes Kathon CG tartalma 7 mg. A Kathon CG erősen toxikus anyag. A mérgezés a laboratóriumi munkák biztonsági előírásainak betartásával elkerülhető.

	Lejárat idő	CONTROL	Kontrol
	Gyártási szám	CAL	Standard
	Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok	CT	Bevont cső
	Biológiai veszély	TRAC	Tracer
	Lásd használati utasítást	WASHB	Mosópuffer
	In vitro diagnosztikai eszköz		2-8°C-on tárolandó
	Gyártó		
REF	Katalógus szám		
	Radioaktív anyag		

CE 1011

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

Technikai e-mail: immuno@izotop.hu

Kereskedelmi e-mail: commerce@izotop.hu

IZOTOP

IZOTÓP INTÉZET Kft.

1535 Budapest, Pf.: 851.

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