

AFP [¹²⁵I] IRMA készlet

(REF: RK-800CT)

Az AFP [125I] IRMA készlet humán szérumban alfa-fetoprotein (AFP) tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0 - 500 IU/ml mérési tartományban.

Bevezetés

Az AFP (alfa-fetoprotein) egy kb. 65 kDa-os molekulatömegű glikoprotein, amelyet a magzati máj sejtjei választanak ki.

Az anya szérumban AFP szintje folyamatosan emelkedik a terhesség 30. hetéig, majd ezután hirtelen lecsökken. Nyitott gerincűség (spina bifida) és placentális rendellenességek esetén az anya szérumban AFP koncentrációja erősen megnövekszik, míg a magzat kromoszomális elváltozása (pl. Down-kór) csökkent AFP szinttel társul.

Máj karcinóma, here és petefészek teratocarcinómák esetében nagyon gyakran megemelkedik a szérumban AFP koncentrációja (> 200 IU/ml), míg gyomor, tüdő, prosztata stb. tumoroknál ritkábban.

A szérumban AFP koncentráció növekedését eredményezhetik egyéb megbetegedések is pl. hepatitisz, májgyulladás stb.

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. A két antitest egyike radiojóddal jelzett (jelző antitest), a másikuk jelöletlen (ún. "capture" antitest).

A bevont csöves rendszerek jelen változatában az antigénnek a két antitesttel kialakult immunkomplexe ("szendvics") reaktív kémcső felületén mint szilárd fázison kötődik meg. 2 órás reakcióidót követően a reakcióelegyet a kémcsőből kiöntjük, és pufferes mosás után gamma-számlálással mérjük a radioaktivitást. A kémcsőekben mért radioaktivitás egyenesen arányos a rendszerben lévő hormon koncentrációjával. Az ismert koncentrációjú standardok kötési értékei alapján szerkesztett kalibrációs görbéről az ismeretlen minták koncentrációját 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 (1 x 3ml, 5 x 0,5 ml), 0,1 % Kathon CG tartósítósóval. Koncentrációjuk (S1 - S6): 0, 2, 10, 40, 150, 500 IU/ml. WHO ¹²⁵I S 72/225 -re kalibrálva. (1 IU/ml = 1,21 ng/ml).
- 1 üveg ELLENORZO SZÉRUM (1 ml), 0,1 % Kathon CG tartósítósóval. Koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.
- 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt muanyag 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

Kémcsotartó, rugalmas kémcsörögző kikapcsolós; pipetták (0,05, 0,2 és 2 ml térfogatra, eldobható muanyag hegyekkel); rázógép; kémcsőzáró muanyag fólia; papírvatta vagy itatóspapír; gamma-számláló

Ajánlott:

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

A mérési minták gyűjtése és tárolása

Amennyiben az AFP meghatározás a mintavételt követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat 28°C -on, későbbi felhasználás esetén -20°C-on mélyhűtve tartjuk. A fagyasztott mintákat hagyjuk felolvadni, és felhasználás előtt alaposan homogenizáljuk. Kerüljük az ismételt visszafagyasztást.

Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumot ne használjunk mérésre. A magas AFP tartalmú mintákat (> 500 IU/ml) hígítjuk ki az S1 standarddal és mérjük le újra. A javasolt hígítási arány 1:10.

A reagensek előkészítése, tárolása

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

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 (S1-S6), ellenőrző szérumban (C); vizsgálandó minták (M).
2. Mérjük 50 µl STANDARDot, ill. ELLENORZO SZÉRUMOT, és szérummintát a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csöbe 200 µl TRACER oldatot.
4. Helyezzük a csöveket rögzítős kémcsotartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 2 órán át szobahőmérsékleten.
5. Adjunk minden csövhöz 2 ml mosópuffert, majd a csotartót 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, a 5.pontnak megfelelően.
7. Mérjük meg a csövek radioaktivitását gamma-számlálással és számítsuk ki az eredményeket az alábbiak szerint.

1.Táblázat Folyamatábra, pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

	T	S1-S6	Ell. szérumban	Minta
Standard		50		
Ell. szérumban			50	
Minta				50
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/cso)				
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.

Olvassuk le a mérési minták koncentrációját 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 S1 beütésszámával) korrigált értékeiket osztjuk a totál aktivitással az alábbi egyenlet szerint:

$$B/T (\%) = \frac{S2-6/C/Mx/(\text{cpm}) - S1(\text{cpm})}{T(\text{cpm})} \times 100$$

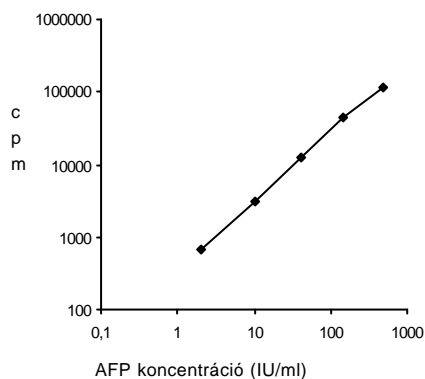
Egy jellegzetes mérési adatsort foglalj össze a 2. táblázat, míg az 1. ábra egy jellemző standard görbét mutat.

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 valószínűnek, amelyek értéke magasabb, mint a mérési statisztikailag meghatározott kimutatási határa (ld. érzékenység).

2.Táblázat Jellemző mérési eredmények

Csővek	Beütés-szám cpm	Átlag cpm	B/T%
T	257181 256904	257042	-
S1	65 87	76	0,03

S2	771 747	759	0,27
S3	3192 3221	3207	1,22
S4	12423 12282	12353	4,78
S5	44624 42117	43371	16,84
S6	116753 113293	115023	44,72
C	10683 10208	10445	4,03



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

Minőségi jellemzők

Az assay jellemző paraméterei

NSB/T < 0,18 %

Specifitás

A készletben alkalmazott monoklonális antitestek humán szérumban albuminnal nem keresztreakálnak.

Érzékenység

Jelen készlettel az analitikai érzékenység a 0-standarddal 15 párhuzamos mérésből meghatározva 0,06 IU/ml. Értéke egyenlo a 0-standard B0+2*SD kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")

Egyéni szérumbmintákhoz ismert mennyiségű AFP-t adva, a visszanyerés (recovery) 97,9 ± 3,6 % (közéérték ± SD, n=20).

Hígítási teszt (linearity)

Egyéni szérumbminták S1 standarddal végzett sorozat-hígításakor a várt (x) és a mért (y) koncentrációértékek között az alábbi lineáris összefüggés adódott:

$$Y = 1,0413 x + 1,006 \quad R = 0,9961 \quad n = 20$$

Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 8500 IU/ml alatt nem jelentkezik. Bármely mintának, amelynek koncentrációja a 500-8500 IU/ml tartományba esik, ezzel a készlettel mérve, a koncentrációját több mint 500 IU/ml-nek fogjuk találni.

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 15 párhuzamosan egy sorozaton belül, az inter-assay

pontosságot 2 párhuzamosan, 15 független mérésben értékelve, 8 mintára az alábbi adatokat kaptuk.

Intra-assay		Inter-assay	
átlag (IU/ml)	CV %	átlag (IU/ml)	CV %
7,05	11,1	7,46	3,9
14,90	3,0	15,21	3,1
24,97	2,8	25,21	2,3
32,07	2,1	31,79	4,6
47,49	2,2	49,38	3,3
55,71	2,7	57,87	3,6
69,34	3,3	71,85	2,8
177,45	2,4	178,64	4,0

Várható referens tartomány

férfiak: 0,47 – 5,39 IU/ml

nők: 0,37 – 4,41 IU/ml

16. hetes terhes szérumb:

30 IU/ml (1 MoM)

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

Kóros értékek:

Hepatocarcinoma: > 100 IU/ml

Hepatitis: < 100 IU/ml

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 "meggyuruzni").

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

3) **A mosópuffer adagolása.** A mosópuffer legcélszerűbben hajlékony kivezető csővel felszerelt diszpenzertől adagolható, amelyhez legalább 800 ml-es folyadék-edény csatlakozik. A hajlékony csővel az asztalon fekvő kémcsóállvány fölött végighaladva a mosópuffer hozzáadása gyors és hibamentes. Diszpenzer hiányában kelloen nagy térfogatú fecskendővel ellátott ismétlo pipetta használható.

Egyéb tudnivalók

Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó AFP 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 szérumbot tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérumb HIV-Ab és HBsAg vizsgálatra negatív eredményt adott. Ennek ellenére a humán szérumbot 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 reagenseket nagy mennyiségű vízzel öblítve juttassuk a csatornahálózatba.

A standardok és az ellenőrző szérumb tartósítására Kathon CG-t alkalmazunk. A készlet összes Kathon CG tartalma 6,5 mg. A Kathon CG erosen toxikus anyag. A mérgezés a laboratóriumi munkák biztonsági előírásainak betartásával elkerülhető.

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



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