

Szabad PSA [¹²⁵I] IRMA készlet

(REF: RK-85CT)

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

Bevezetés

A PSA (Prostate Specific Antigen) körülbelül 30 kDa molekula-tömegű, 237 aminosavból álló egyláncú glikoprotein. Szerkezete hasonló a tripszinszerű kallikreinhez, enzimaktivitását tekintve a kimotripsinnel analóg, szerinproteáz. Keletkezése szövet-specifikus, a prosztata termeli, az ondo nagy koncentrációban tartalmazza. Proteáz-aktivitásának az ondo 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 PSA meghatározás egységes módszertanának kialakulását, elfogadását mindmáig megnehezítik a kétféle molekuláris formából következő mérési, standardizálási nehézségek. A PSA szabad/komplex formáinak aránya egyedről egyedre változik.

A szabad PSA koncentrációjának meghatározása nélkülözhetetlen módszer a prosztata karcinóma diagnosztikájában és a stádium meghatározásában.

Az irodalom szerint az optimális szabad/total PSA cut-off érték: 25 %

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 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 96/668 -ra kalibrálva.

3. 1 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM (1 ml), 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 kémcsőörögzőtő 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 szabad PSA meghatározás a mintavételt követő 1 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. Kerüljük az ismételt visszafagyasztást.

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, a 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	Minta
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				

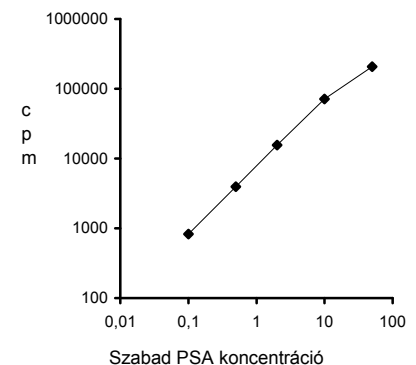
Az eredmények számítása

Számítsuk ki a párhuzamos csövek beütésszámainak középértékét. Log-log papíron ábrázoljuk a standard koncentrációkhoz tartozó átlag cpm értékeket. Olvassuk 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:

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

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("online") számítógépes adatfeldolgozást is. A sokféle feldolgozó program közül jelen készítményhez 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 valósnak, amelyek értéke magasabb, mint a mérés statisztikailag meghatározott kimutatási határa (ld. érzékenység).



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

2. Táblázat Jellemző mérési eredmények

Csővek	Beütés-szám cpm	Átlag cpm	B/T%
T	316661 313504	315082	-
S0	150 164	157	0.05
S1	707 733	720	0.18
S2	2823 2916	2870	0.86
S3	10628 10572	10600	3.31
S4	42512 42397	42455	13.42
S5	101687 101845	101766	32.25
C	23761 24648	24205	7.63

Minőségi jellemzők

Az assay jellemző paraméterei

NSB/T	< 0,3 %
Bmax/T	> 30%

Specifitás

Az assay-ben felhasznált antitestek nem mutatnak keresztreakciót a következő anyagokra: CEA, AFP, CA 19-9, CA 125, PAP, Albumin, Glükoproteinek, Bilirubin, Humán IgG.

Érzékenység

Jelen készlettel az analitikai érzékenység a 0-standarddal 15 párhuzamos mérésből meghatározva 0,011 ng/ml. Értéke egyenlő a 0-standard B0+2*SD kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

A készlet **funkcionális érzékenysége** kisebb, mint 0,047 ng/ml. Meghatározása alacsony szabad PSA tartalmú szérumból minták 10 független mérés-sorozatban kapott inter-assay imprecíziós profiljából történt, értéke egyenlő az imprecíziós görbe 22 %-os metszéspontjához tartozó szabad PSA koncentrációval.

Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 20000 ng/ml alatt nem jelentkezik. Bármely mintának, amelynek koncentrációja a 50-20000 ng/ml tartományba esik, ezzel a készlettel mérve, a koncentrációját több mint 50 ng/ml-nek fogjuk találni.

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 15 párhuzamossal egy sorozaton belül, az inter-assay pontosságot 2 párhuzamossal, 10 független mérésben értékelve, 5 mintára az alábbi adatokat kaptuk.

Intra-assay		Inter-assay	
átlag (ng/ml)	CV %	átlag (ng/ml)	CV %
0.544	2.8	0.516	7.15
1.021	2.3	0.967	3.65
2.292	2.2	2.302	4.31
3.190	5.7	3.189	3.83
18.12	1.3	16.84	6.27

Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")

Egyéni szérumból ismert mennyiségű szabad PSA-t adva, a visszanyerés (recovery) $114 \pm 9,4 \%$ (középpérték \pm SD, $n=11$).

Hígítási teszt (linearity)

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

$$y = 1.0552x - 0.0745 \quad R^2 = 0,9988 \quad n = 29$$

Várható referens tartomány

Egészséges férfiak: <0,7 ng/ml (n = 202)
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 szabad PSA mérésre optimalizáltak.
- 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. Egyenetlen, 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 fölött 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 szabad PSA készletének komponenseivel.

Biztonsági óvrendszabályok

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 reagenseket 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.

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

CE1011

Website: <http://www.izotop.hu>

Technical e-mail: immuno@izotop.hu

Commercial e-mail: commerce@izotop.hu

IZOTOP

INSTITUTE OF ISOTOPES Ltd.

1535 Budapest. Pf.: 851.

Tel.: (36-1)392-2577, Fax: (36-1)395-9247

03488