

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

A hPSA [I-125] IRMA készlet humán szérumból specifikus antigén (PSA) tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0 - 100 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 szövetspecifikus, 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 -antikimotripszinhez 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 bevont csöves rendszerek jelen változatában az antigénnek a két antitesttel kialakult immunkomplexe ("szendvics") a reaktív kémcső felületén mint szilárd fázison kötődik meg. Az 1 órás reakcióidőt követően a reakcióelegyet a kémcsőből kiöntjük, és pufferes mosás után gamma-számlálóval mérjük a radioaktivitást. A kémcsővekben 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 ^{125}I -TRACER (11 mL), pufferes oldat radioaktivitása <980kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.
- 7 üveg STANDARD (7 x 1 mL), 0,1 % NaN_3 tartósítóval. Koncentrációjuk ($S_0 - S_5$): 0, 0,15, 0,5, 2, 8, 25, 100 ng/mL. (WHO ECBS 96/670-re kalibrálva). **Figyelem!** Az S_0

és S_1 standard pontok között egy jelöletlen gumidugós standard (0,15) is található!

- 2 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM (2 x 1,0 mL) humán szérumból, 0,1 % NaN_3 tartósítóval. Koncentrációjukat a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.
- 2 doboz 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 kémcső rögzítő kiképzésben; pipetták (25, 100 és 2000 μL) térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel; desztillált víz, 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 készlet komponensei az első felnyitást követően 2-8°C -on tárolhatóak a készlet lejárati idején belül. A pontos lejárati idő a kísérő bizonylaton és a dobozcímkén van feltüntetve.

A meghatározás menete

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

- Jelöljük meg két-két csövet: összes beütésszám (T), standard (S_0-S_5), ellenőrző szérumból (C); vizsgálandó minták (M).
- Mérjük meg 25 μL STANDARD-ot, ill. ELLENŐRZŐ SZÉRUMOKAT, és szérummintát a megfelelő csövekbe.
- Mérjük meg minden csőbe 100 μL TRACER oldatot.
- Helyezzük a csöveket rögzítő kémcsőtartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 1 órán át szobahőmérsékleten.
- Adjunk minden csőhöz 2 mL desztillált vizet, majd a csőtartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülülzót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.
- Ismételjük meg a mosási lépést egyszer, az 5. pontnak megfelelően.
- Mérjük meg a csövek radioaktivitását gamma-számlálóval és számítsuk ki az eredményeket az alábbiak szerint.

1. Táblázat Folyamatábra, pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

	T	Standard	Ell. szérumból	Minta
Standard		25		
Ell. szérumból			25	
Minta				25
Tracer	100	100	100	100
Kevertetés, 1 óra szobahőmérsékleten				
Desztillált víz		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Desztillált víz		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.

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 S_0 beütésszámával) korrigált értékeit osztjuk a totál aktivitással az alábbi egyenlet szerint:

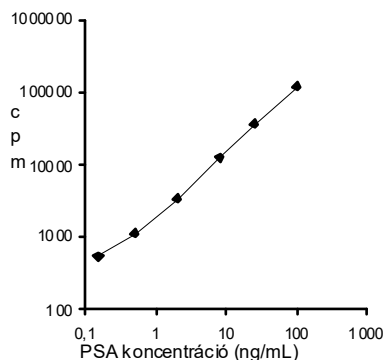
$$B/T (\%) = \frac{S_{1-5}/C/Mx / (\text{cpm}) - S_0(\text{cpm})}{T (\text{cpm})} \times 100$$

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 ("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).

2. Táblázat Jellemző mérési eredmények

Cső	Koncentráció (ng/mL)	Átlag cpm	B/T%
T		266559	-
S_0	0	242	0,09
	0,15	550	0,2
S_1	0,5	1120	0,4
S_2	2	3439	1,3
S_3	8	13016	4,9
S_4	25	37874	14,2
S_5	100	124568	46,7
CI	4,46	7356	2,8
CII	12,9	20236	7,6



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

Minőségi jellemzők

Specifititás

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

Érzékenység

120 meghatározás alapján (60 nulla standard és 60 alacsony koncentrációjú minta) és 95% valószínűséggel, a mérés határai:

Limit of Blank (LoB): 0,035 ng/mL

Limit of Detection (LoD): 0,09 ng/mL

Eredmény közlés szempontjából: ha a mérési eredmény az LoB alatt van, a mintában nem detektálható a PSA. Ha az eredmény az LoB és LoD között van, a PSA detektálható, koncentrációja < 0,09 ng/mL.

Hígítási teszt (linearity)

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

$$y = 0.9916x + 0.073 \quad R = 0.9997 \quad n = 16$$

Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 20000 ng/mL alatt nem jelentkezik. Bármely mintának, amelynek koncentrációja a 100 ng/mL-es tartomány felett van, a 0-ás standard-del történő kihígítás után a készlettel újra mérhető.

Pontosság

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

Intra-assay		Inter-assay	
Átlag (ng/mL)	CV %	Átlag (ng/mL)	CV %
0,94	3,7	0,99	5,7
1,98	1,9	2,03	4,2
4,12	3,2	4,27	2,8
8,43	2,2	8,83	2,7
17,24	1,4	17,70	2,9

Várható referens tartomány

Egészséges felnőtt férfiak esetében:
< 3,0 ng/mL (N = 285)

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

Korosztály	N	ng/mL PSA (< átlag + 3SD)
20-30	76	< 1,2
31-40	57	< 2,6
41-50	54	< 2,7
51-60	68	< 2,8
> 60	34	< 4,4

Az assay korlátai

- A készletben található komponensek szérumban történő PSA mérésre optimalizáltak.
- Serüljük a minták ismételt visszafagyasztását.
- Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumot 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 desztillált víz adagolása.** A desztillált víz legcélszerűbben hajlékony kivezető csővel felszerelt diszpenzerekből adagolható, amelyhez legalább 1 literes folyadék-edény csatlakozik. A hajlékony csővéggel az asztalon fekvő kémcsőállvány fölött végighaladva a desztillált víz 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 szérumot tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérum HIV-Ab (Anti HIV 1,2), Hepatitis C antitest, HBsAg és Treponema Ab 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. A szarvasmarhából származó komponensek olyan országokból származnak, amelyekben szivacsos szarvasmarha agyvelőgyulladásos eseteket nem regisztráltak. Mindezek ellenére az állati eredetű komponenseket tartalmazó reagenseket **potenciálisan fertőzőként kell kezelni!**

Mérgező anyagok

A készlet egyes komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma 20 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.

	Lejáratási idő	CONTROL	Kontrol
	Gyártási szám	CAL	Standard
	Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok	CT	Bevont cső
	Biológiai veszély	TRAC	Tracer
	Lásd használati utasítás		
	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