

AFP [I-125] 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 anyai szérumban AFP szintje folyamatosan emelkedik a terhesség 30. hetéig, majd ezután hirtelen lecsökken. Nyitott gerincűség (spina bifida) és placenta rendellenességek esetén az anyai szérumban AFP koncentrációja erősen megnövekszik, míg a magzati kromoszomális rendellenessége (pl. Triszómia 21) legtöbbször csökkent AFP szinttel társul.

Máj karcinóma, here és petefészek teratocarcinómák esetében nagyon gyakran megemelkedik a szérumban AFP koncentrációja, 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 óras 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 ¹²⁵I-TRACER (21 ml), pufferes oldat radioaktivitása <740 kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.
 - 6 üveg STANDARD (1 x 3ml, 5 x 0,5 ml), 0,1 % nátrium-azid tartósítással. Koncentrációjuk (S1 - S6): 0, 2, 10, 40, 150, 500 IU/ml. WHO 1st IS 72/225 -re kalibrálva. (1 IU/ml = 1,21 ng/ml).
 - 1 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM (1 ml), 0,1 % nátrium-azid tartósítással. Koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.
 - 2 doboz BEVONT CSÖV, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt műanyag dobozban
 5. MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM, (20 ml), 0,2 % nátrium-azid tartósítással, 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 (0,05, 0,2 és 2 ml térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel); rázógép; kémcsőzároló 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 az AFP meghatározás a mintavételt követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat 2-8°C -on, későbbi felhasználás esetén -20°C-on mélyhűtve tartjuk. A fagyaszott 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 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 (S1-S6), ellenőrző szérum (C); vizsgálandó minták (M).
2. Mérjük 50 µl STANDARDot, ill. ELLENŐRZŐ SZÉRUMOT, és szérummintát a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csőbe 200 µl TRACER oldatot.
4. Helyezzük a csöveket rögzítő kémcsőtartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 2 órán át szobahőmérsékleten (min. 200 - 600 rpm).
5. Adjunk minden csőhöz 2 ml mosópuffert, majd a csőtartót fejfel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülúszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percre.
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 | S1-S6 | Ell. szérum | Minta |
|--------------------------------------|-----|-------|-------------|-------|
| Standard | | 50 | | |
| Ell. szérum | | | 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/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 beütésszámának középértékét.

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

Olvassuk le a mérendő 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 értékeit osztjuk a totál aktivitással az alábbi egyenlet szerint:

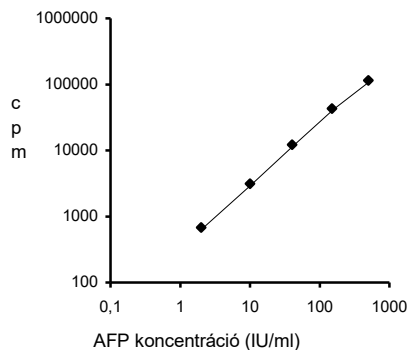
$$B/T (\%) = \frac{S2-6/C/Mx/(\text{cpm}) - S1(\text{cpm})}{T(\text{cpm})} \times 100$$

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

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 |

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("online") 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).



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

Működési jellemzők

Specifitás

A készletben alkalmazott monoklonális antitestek humán szérumban albuminnal nem kereszt-reagálnak.

Érzékenység

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

Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")

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

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 % |
| 8,04 | 3,2 | 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 |

Hígítási teszt (linearity)

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

$$Y = 1,0645x + 0,0217 \quad R^2 = 0,998 \quad n = 20$$

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.

Várható referens tartomány

férfiak: 0,47 – 5,39 IU/ml

nem terhes nők: 0,37 – 4,41 IU/ml

nők a terhesség második trimeszterében:

| Terhességi hét | Mintaszám | 1 MOM (IU/ml) |
|----------------|-----------|---------------|
| 14 | 22 | 23,25 |
| 15 | 1107 | 25,7 |
| 16 | 1019 | 29,1 |
| 17 | 137 | 32,4 |

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

A kapott eredményeket csak az általános klinikai képpel összhangban lehet értelmezni. Bármely betegség vagy rendellenesség bizonyítására egyetlen *in vitro* diagnosztikai készlet sem használható!

Megjegyzések, tanácsok

1) **Figyelem, hibaforrás!** A bevont kémcsövek nem tartalmaznak külön feliratot. Közönséges 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 tökéletlen más módon is megjelölni (pl. üvegre íróval "meggyűrűzni").

2) **Figyelem, hibaforrás!** Kevertetésre csak olyan kémcsótartó 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 végig haladva 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 AFP készletének komponenseivel.

Biztonsági óvrendszabályok

Radioaktivitás

A készlet radioaktív anyagot tartalmaz. A felhasználó laboratóriumok felelőssége, hogy munkájuk során ill. a védőcsomagolás esetle-

ges sérülése esetén a radioaktív anyagok tárolására, felhasználására, és kezelésére vonatkozó törvényi szabályozás és hatósági előírások szerint járjanak el.

Fertőzésveszély

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










Minden állati terméket és származékot egészséges állatokból nyertek. 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 67,5 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.

Tárolás

A készlet komponensei 2-8°C között tárolhatók a 60 napos lejárati időn belül.

| | | | |
|---|--|---|--------------------|
|  | Lejárati 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 | REF | Katalógus szám |
|  | Gyártó |  | 2-8°C-on tárolandó |
|  | Radioaktív anyag | | |



WEB oldal: <http://www.izotop.hu>
Technikai e-mail: mailto:immuno@izotop.hu
Kereskedelmi e-mail: commerce@izotop.hu

IZOTOP
IZOTÓP INTÉZET Kft.
1535 Budapest, Pf.: 851.
Tel.: 392-2577, Fax: 395-9247

Aktualizálva: 2023. május