

FREE PROSTAT SPECIFIC ANTIGEN (IRMA)

کیت رادیوایمونوتریک اسبی (FPSA)

مقدمه :

سرطان پروستات چهارمین سرطان شایع در دنیا و شایعترین سرطان احشایی در مردان می باشد. از نظر پزشکی مقدار *PSA-ACT* و *FREE PSA* زمانیکه با مقدار کل *PSA* یا *PSA TOTAL* مقایسه شود نقطه تمایز بین سرطان پروستات و بزرگی خوش خیم پروستات (*BPH*) است. ولی تا کنون مطالعه کاملی که ارتباط بین سطح سرمی *PSA* و درجه بیماری را تعیین کند انجام نشده است. لذا مطالعه حاضر با هدف تعیین ارتباط بین سطح سرمی *PSA* توتال و نسبت *FREE PSA* به *PSA* توتال با درجه بدخیمی سرطان پروستات در نمونه های بیوسی به انجام رسید. شکل سوم *PSA* با وزن ملکولی کمتر از ۳۰ کیلو دالتون که توانایی اتصال با *ACT* را ندارد فرم غیر فعال یا آزاد آن می باشد. نسبت دو فرم کمپلکس *PSA* و فرم آزاد در افراد مختلف تفاوت دارد.

اساس روش اندازه گیری :

کیت رادیوایمونوتریک اسبی سنجش *FPSA* بر اساس غیر رقابتی تک مرحله ای می باشد. در این آزمایش از دو آنتی بادی *FPSA* مونوکلونال بسیار اختصاصی با توانایی تشخیص دو ملکول اپیتوپ متفاوت استفاده می شود. یک آنتی بادی بصورت فاز جامد کوت شده در لوله و دیگری بعنوان *I 125 TRACER* استفاده می شود. هر دوی این آنتی بادیها همزمان با آنتی ژن های *FPSA* موجود در استاندارد، سرم کنترل و نمونه واکنش می دهند. مواد غیر اختصاصی در مرحله شستشو از واکنش خارج می شوند. میزان فرم اکتیویته موجود در لوله با غلظت *FPSA* نمونه رابطه مستقیم دارد. استانداردهای *FPSA* با غلظت مشخص همراه با نمونه های مجهول آزمایش می شوند که براساس منحنی استاندارد مقدار شمارش در مقابل غلظت *FPSA*، غلظت نمونه های مجهول بدست می آید.

محتویات کیت :

Kit Contents	Quantity (100T)
1. Coated Tubes Main: Anti - FPSA monoclonal antibody	100 Tubes (50EA/Rack×2)
2. I 125 Tracer Main: Anti - FPSA monoclonal antibody Labelled with I 125 Diluent solution : BSA - PBS Preservative : Sodium Azide	20ml×1vial Radioactivity 592 KBq (Ready to use)
3. Standards : Main: FPSA of each concentration (Range: 0, 0.5, 1, 2.5, 5, 20 ng/ml) Diluent solution : BSA - PBS Preservative : Sodium Azide	1 ml × 6 vials (Ready to use)
4. Serum Diluent Main : BSA - PBS Preservative : Sodium Azide	12 ml × 1 vials (Ready to use)
5. Control Serum Main : animal serum of 1.6 - 2.4 ng/ml Diluent solution : BSA - PBS Preservative : Sodium Azide	1 ml × 1 vials (Ready to use)
6. Washing Solution (Concrtred) Main : Tween 20 solution	40 ml × 1 vials

نکات قابل توجه :

- در این کیت از سرم انسانی استفاده شده است که از نظر *HBS AG* و *HIV* منفی می باشند.
- از استفاده مواد بعد از تاریخ انقضاء خود داری فرمائید.
- از مخلوط کردن با کیت های تاریخ گذشته اجتناب ورزید.

۴- درب ظروف را بردستی بر روی ویال خود ببندید.

۵- از لباس و دستکش یکبار مصرف برای کار با مواد رادیو اکتیو استفاده کنید.

۶- معرف ها باید قبل از مصرف به دمای اتاق یا محیط برسند.

۷- هرگز محلول کیت هایی که دارای *LOT* متفاوتی هستند با هم مخلوط نکنید.

تهیه و جمع آوری نمونه :

این تست را می توان مستقیم بر روی نمونه های سرم انسانی یا پلاسما انجام داد ولی تأکید می شود. اگر قرار است آزمایش در طی ۲-۳ روز بعد انجام شود بهتر است در یخچال در دماهای ۲-۸ درجه سانتیگراد و اگر برای اهداف طولانی مدت ۱۵-۱۰ روز می باشد باید در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شود. از انجماد و ذوب مکرر خودداری شود. برای جلوگیری از ایجاد واکنش های تداخل گر برای هر تست از یک سمپلر استفاده کنید معرف ها باید قبل از آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط قرار بگیرند. بهتر است که برای انجام آزمایش بصورت دوپل یا دوتایی استفاده شود و از میانگین آنها به جواب صحیح برسید.

اثر هوک : زمانیکه نمونه های حاوی غلظت های بالای آنتی ژن *FPSA* بصورت رقیق نشده با این روش آزمایش می شوند در اثر پدیده هوک مقادیر پائین تر از غلظت حقیقی بدست می آید. در این کیت پدیده هوک تا میزان *3000 ng/ml* دیده نشد.

محاسبه نتایج :

- با استفاده از میانگین شمارش استانداردها (محور *Y*) و غلظت مشخص آنها (محور *X*) بر روی کاغذ میلیمتری، منحنی استاندارد رسم کنید.
- میانگین شمارش برای هر نمونه را بدست آورید و روی محور *Y* جای آن را پیدا کنید. سپس نقطه مذکور را توسط خطی به منحنی استاندارد وصل کنید. از نقطه بدست آمده خطی عمود بر محور *X* ایجاد می شود که بیانگر میزان غلظت نمونه است.

مقادیر طبیعی :

مقادیر طبیعی در سرم افراد نرمال که توسط آزمایش های مکرر به روش رادیو ایمونوتریک اسبی بدست آمده است به قرار زیر است : $ng/ml \leq 1.6$
 $ng/ml \times 100 = ng/dl$

حساسیت :

حداقل غلظت سرمی قابل اندازه گیری با این روش در مقایسه با استاندارد صفر میزان $0.03 ng/ml$ است.

اختصاصی بودن :

در این تست علامت مشخصی از واکنش متقاطع بین میزان بالای *CA 125*، *CA 15-3*، *AFP*، *CEA*، *CA 19-9* مشاهده نشده است.

دقت :

برای ارزیابی دقت تست اعم از تکرارپذیری و تولید دو باره روی ۳ سرم با غلظت مشخص *FPSA* انجام می شود.

Serum	Intra assay		Inter assay		n
	Mean ± SD (ng/ml)	C.V (%)	Mean ± SD (ng/ml)	C.V (%)	
1	1.13 ± 0.07	6.04	1.12 ± 0.08	7.13	5
2	5.20 ± 0.25	4.89	5.23 ± 0.34	6.48	
3	15.66 ± 0.39	2.48	15.89 ± 0.47	2.95	

$$*C.V = S.D \text{ of sample (ng/ml)} / \text{Mean of sample (ng/ml)} \times 100$$

ریکاوری: برای انجام ریکاوری دو نمونه سرم با غلظت مشخص را به سه استاندارد

مختلف ($2.5 - 5 - 20 ng/ml$) اضافه می کنیم.

دو نمونه سرم : غلظت پائین *5 ng/ml* و غلظت بالا *16 ng/ml*

Sample (ng/ml)	Added (ng/ml)	Expected Value (ng/ml)	Calculated Value (ng/ml)	Recovery (%)
5.04	2.5	3.77	3.82	101.3
	5	5.02	5.07	101.0
	20	12.52	12.74	101.8
16.20	2.5	9.35	9.05	96.8
	5	10.60	10.51	99.2
	20	18.10	18.91	104.5

$$*Recovery(\%) = \text{calculated value(ng/ml)} / \text{Expected value(ng/ml)} \times 100$$

آزمایش رقت :

با رقیق سازی یک نمونه سرم با غلظت مشخص با استاندارد 0 نتایج زیر بدست آمده است :

Sample (ng/ml)	Dilution Factor	Expected Value (ng/ml)	Calculated Value (ng/ml)	Recovery (%)
1	Undiluted	24.0	> 20	-
	1:2	12.0	12.41	103.4
	1:4	6.0	6.17	102.8
	1:8	3.0	3.09	103.0
	1:16	1.5	1.56	104.0
	1:32	0.75	0.76	101.3
	1:64	0.38	0.38	100.0
	1:128	0.19	0.18	94.7

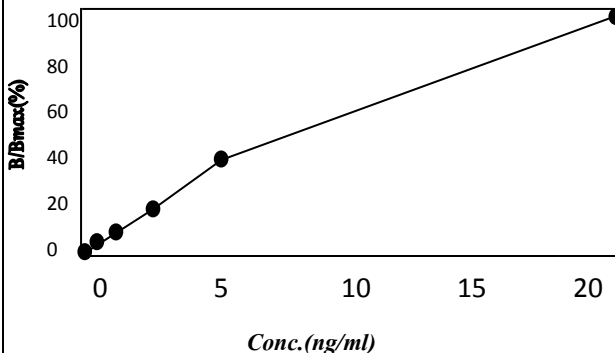
$$*Recovery(\%) = \text{calculated value(ng/ml)} / \text{Expected value(ng/ml)} \times 100$$

نمودار استاندارد :

برای محاسبه درصد اتصال رادیو اکتیویته کنترل، استاندارد و نمونه ها از فرمول زیر محاسبه می شوند:
















Description	CPM	B/Bmax (%)	Conc. (ng/ml)
Total Activity	187458		
Std 1	0 ng/ml	241	1.2
Std 2	0.5 ng/ml	578	2.9
Std 3	1.0 ng/ml	1257	6.4
Std 4	2.5 ng/ml	2707	13.7
Std 5	5.0 ng/ml	5614	28.5
Std 6	20 ng/ml	19715	100
Control Serum	2161	11	1.8
Sample 1	513	2.6	0.3
Sample 2	10876	55.2	8.4

Standard Curve for Free-PSA



References:

- Hyuk Lee et al, Development and test of efficiency for 'RIAKEY® PSA IRMA Tube', The Korean J of Nuclear Medicine Technology, 5(2):248-53, 2000.
- Black MH et al, Serum total and free prostate-specific antigen for breast cancer diagnosis in women, Clin Cancer Res, 6(2):467-73, 2000.
- Catalona WJ et al, Percentage of free PSA in black versus white men for detection and staging of prostate cancer: a prospective multicenter clinical trial, Urology, 55(3):372-6, 2000.

	Used by		Batch code
	Temperature limitation		Control
	Store between 2-8 °C		
	Caution, consult accompanying documents		Standard
	Biological risk		Coated Tube
	Consult instructions for use		Tracer
	In vitro diagnostic medical device		Wash Buffer
	Manufacturer		Radioactive material
REF	Catalogue number		

آدرس کارخانه :

شهرک صنعتی اشتهارد - بلوار ابوریحان بیرونی - بلوار غزالی غربی - لادن ۲
 - شرکت پادیاب طب
 تلفن : ۰۲۶ - ۳۷۷۷۵۵۳۲-۹
 فکس : 026 - 37775529
 پشتیبانی فنی : ۰۹۱۲۸۹۳۰۰۴۸

دفتر مرکزی: تهران - ۲۴ متری سعادت آباد - خیابان یکم شرقی - خیابان شب بو شرقی - پلاک ۱۷ - طبقه ۲

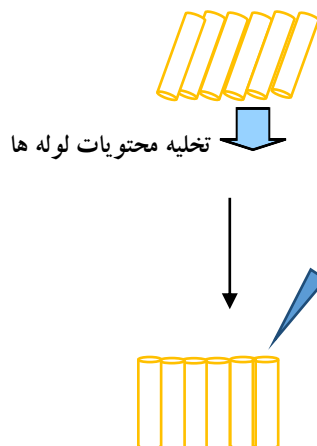
آدرس اینترنتی : www.padyabteb.com

ایمیل شرکت : info@padyabteb.com



شرکت پادیاب طب
 تلفن سوالات فنی :

۰۹۱۲۸۹۳۰۰۴۸



۲ مرحله شستشو با محلول شوینده ۱/۲٪



۵

ابتدا محتویات لوله را تخلیه سپس با حجم 2cc محلول شوینده رقیق شده 1.2% در ۲ نوبت با ثابت نگهداشتن به مدت ۲ دقیقه شستشو انجام می شود.

۶

با استفاده از دستگاه گاما کانتر ظرف مدت ۱ دقیقه اکتیویته موجود در لوله ها خوانده می شود.

نکته :

در صورت غلظت بالای 100 ng/ml باید با Serum Diluent به نسبت 1 به 10 یا به نسبت 1 به 5 رقیق شود و سپس بعد بدست آوردن نتیجه در میزان رقت ضرب شود.

روش کار :

نکته : قبل از انجام آزمایش محلول شستشو را با آب مقطر به میزان ۱/۲٪ رقیق کنید طبق مثال زیر :
 مثال: 12cc محلول wash در 1000 cc آب مقطر = 1.2%

۱ تعداد لوله های کوت شده را برای استاندارد، کنترل و نمونه دوبل یا دوتایی قرار دهید. برای شمارش تام از لوله های معمولی استفاده می شود.

۲ 25 λ از استانداردها، کنترل سرم و نمونه بیمار را به داخل هر لوله اضافه می کنیم. (به جز لوله توتال).

۳ 200 λ از ردیاب یا Tracer را به تمام لوله ها اضافه می کنیم.

۴ حبابگیری : لوله ها را به آرامی به مدت ۱۵ ثانیه تکان داده تا محتویات به خوبی مخلوط شوند و سپس لوله ها را به مدت ۲ ساعت برای انکوباسیون روی شیکر 200 rpm قرار می دهیم.

۲ ساعت روی شیکر 200 RPM

