

PROSTAT SPECIFIC ANTIGEN (IRMA)

کیت رادیوایمونومتریکی اسی آنتی ژن اختصاصی پروستات

مقدمه:

یک ماده قندی و گلیکوپروتئینی که با داشتن خاصیت آنزیمی خود از سلولهای پروستات در مردان ترشح می شود. *PSA* نقش مهمی در سیال بودن مایع منی دارد که در واقع زمینه مساعد برای تحرک اسپرم را ایجاد می کند. هر چه میزان این آنتی ژن در خون بیشتر باشد نشانه تخریب سلولهای غده پروستات بوده و می تواند علامتی برای تعیین وضعیت بد پروستات باشد. مقدار آن با بالا رفتن سن افزایش می یابد. در مواردی همچون عفونت ها و التهاب های پروستات میزان این هورمون بالا می رود. در بزرگ شدن خوش خیم پروستات، دستکاری پیشابراه افزایش می یابد. در هورمون درمانی و مصرف داروهای فناستروئید(دارویی برای درمان طاسی سر) سبب کاهش کاذب آن به میزان ۵۰٪ می شود. انجام این آزمایش برای مردان بالای ۵۰ سال در هر سال توصیه می شود.

اساس روش اندازه گیری:

کیت رادیوایمونومتریکی اسی سنجش *PSA* بر اساس واکنش غیر رقابتی تک مرحله ای می باشد. در این آزمایش از دو آنتی بادی *PSA* 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 بادی ها همزمان با آنتی ژن های *PSA* 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 *PSA* نمونه رابطه مستقیم دارد. استانداردهای *PSA* با غلظت مشخص همراه با نمونه های مجهول آزمایش می شوند که براساس منحنی استاندارد مقدار شمارش در مقابل غلظت *PSA*، غلظت نمونه های مجهول بدست می آید.

محتویات کیت:

Kit Contents	Quantity (100T)
1. Coated Tubes 100 Tubes Main: Anti-PSA monoclonal Antibody	(50EA/Rack×2)
2. I 125 Tracer Main: Anti-PSA monoclonal antibody Labeled with I 125 Diluent solution : BSA – PBS Preservative : Sodium Azide	10ml×1vial Radioactivity 592 KBq (Ready to use)
3. Standards : Main: PSA of each concentration (Range: 0, 0.8, 2.5, 5, 15, 50, 100 ng/ml) Diluent solution : BSA – PBS Preservative : Sodium Azide	0.5 ml × 7 vials (Ready to use)
4. Serum Diluent Diluent Solution : BSA – PBS Preservative : Sodium Azide	12 ml × 1 vials (Ready to use)
5. Control Serum Main : animal serum of 1.1 – 1.7 ng/ml Diluent solution : BSA – PBS Preservative : Sodium Azide	0.5 ml × 1 vials (Ready to use)
6. Washing Solution (Concentrated) Main : Tween 20solution	40 ml × 1 vials

نکات قابل توجه:

- در این کیت از سرم انسانی استفاده شده است که از نظر *HIV* و *HBS AG* 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 بدرستی بر روی ویال خود ببندید.

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

۶- لوازم آزمایشگاهی آلوده به مواد رادیو اکتیویته را بوسیله روشهای مراقبت در برابر اشعه و روش های ایمن شستشو و پسماند نمایید.

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 ۸-۲۰ درجه سانتیگراد و برای اهداف طولانی مدت ۱۵-۱۰ روز 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 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 *PSA* 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 *1400 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 آنرا پیدا کنید. سپس نقطه مذکور را توسط خطی به منحنی استاندارد وصل کنید. از نقطه بدست آمده خطی عمود بر محور *X* ها ایجاد می شود که بیانگر میزان غلظت نمونه است.

مقادیر طبیعی:

مقادیر طبیعی در سرم افراد نرمال که توسط آزمایش های مکرر به روش رادیوایمونومتریکی اسی بدست آمده به قرار زیر است: $ng/ml \times 100 = ng/dl \leq 4.0$

تبدیل واحد: $ng/ml \times 100 = ng/dl$

حساسیت:

حداقل غلظت سرمی قابل اندازه گیری با این روش در مقایسه با استاندارد ۰ میزان $0.06 ng/ml$ است.

اختصاصی بودن:

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

دقت:

برای ارزیابی دقت تست اعم از تکرارپذیری و تولید دو باره (inter and intra Assay) روی ۳ سرم با غلظت مشخص *PSA* انجام می شود.

Serum	Intra assay		Inter assay		n
	Mean ± SD(ng/ml)	C.V(%)	Mean±SD(ng/ml)	C.V(%)	
1	2.07 ± 0.12	5.56	2.01 ± 0.16	7.97	10
2	31.32 ± 1.03	3.28	31.25 ± 1.19	3.81	
3	68.61 ± 0.94	1.37	68.19 ± 1.12	1.64	

*C.V = S.D of sample (ng/ml)/Mean of sample (ng/ml)×100

ریکاوری:

برای انجام ریکاوری دو نمونه سرم با غلظت مشخص را به سه استاندارد مختلف (5 – 15 – 50 ng/ml) اضافه می کنیم.

دو نمونه سرم: غلظت پائین 5 ng/ml و غلظت بالا 70 ng/ml

Sample (ng/ml)	Added (ng/ml)	Expected Value (ng/ml)	Calculated Value (ng/ml)	Recovery (%)
5.01	5	5.04	5.01	100.6
	15	10.43	10.01	104.2
	50	26.72	27.50	97.1
69.80	5	38.72	37.40	103.5
	15	43.19	42.40	101.9
	50	58.21	59.90	97.29

*Recovery(%) = calculated value(ng/ml)/Expected value(ng/ml)×100

آزمایش رقت:

با رقیق سازی دو نمونه سرم با غلظت مشخص با استاندارد ۰ نتایج زیر بدست آمده است:

Diluent Rate	Calculated Sample Conc. (ng/ml)	Recovery Rate (%)
1:1	253	100.56
1:4	63.35	100.51
1:16	15.88	
1:1	170	106.47
1:4	45.25	97.55
1:16	10.34	

*Recovery(%) = calculated value(ng/ml)/Expected value(ng/ml)×100

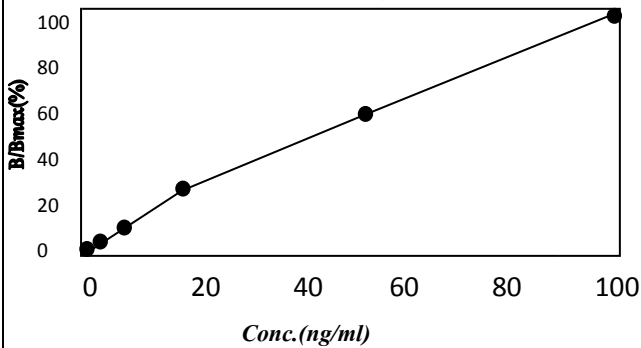
نمودار استاندارد:

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	214164		
Std 1	0 ng/ml	343	0.4
Std 2	0.8 ng/ml	1374	1.7
Std 3	2.5 ng/ml	3614	4.4
Std 4	5 ng/ml	6735	8.2
Std 5	15 ng/ml	15321	18.7
Std 6	50 ng/ml	43070	52.5
Std7	100 ng/ml	82048	100
Control Serum	26.8	3.2	1.5
Sample 1	1512	1.8	0.86
Sample 2	26853	32.7	24.74
















*B/Bmax(%) = Solid phase cpm/Standard 100(ng/ml)×100(%)

Standard Curve for PSA



References:

1. 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.
2. 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.
3. Catalonia 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
	Caution, consult accompanying documents		Standard
	Biological risk		Coated Tube
	Consult instructions for use		Tracer
	In vitro diagnostic medical device		Wash Buffer
	Manufacturer		Radioactive material
	Catalogue number		

آدرس کارخانه:

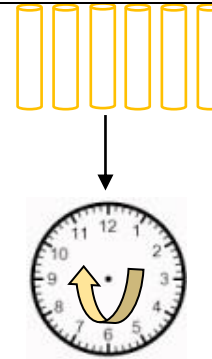
شهرک صنعتی اشتهارد - بلوار ابویرحان بیرونی - بلوار غزالی غربی - لادن ۲
- شرکت پادیاب طب
تلفن: ۰۲۶ - ۳۷۷۷۵۵۲۲-۹
فکس: ۰۲۶ - ۳۷۷۷۵۵۲۹
پشتیبانی فنی: ۰۹۱۲۸۹۳۰۰۴۸

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

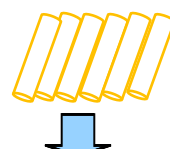
آدرس اینترنتی: www.padyabteb.com
ایمیل شرکت: info@padyabteb.com



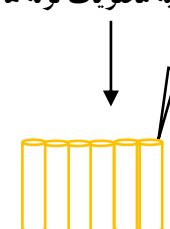
شرکت پادیاب طب
تلفن سوالات فنی: ۰۹۱۲۸۹۳۰۰۴۸



۶۰ دقیقه روی شیکر 200 RPM



تخلیه محتویات لوله ها



مرحله شستشو (۲ مرتبه)



۴ حبابگیری: لوله ها را به آرامی به مدت ۱۵ ثانیه تکان داده تا محتویات به خوبی مخلوط شوند و سپس لوله ها را برای آنکوباسیون به مدت ۶۰ دقیقه روی شیکر 200 rpm انجام می شود.

۵ ابتدا محتویات لوله تخلیه سپس شستشو با حجم 3cc محلول شوینده رقیق شده 1.2% در ۲ نوبت با ثابت نگهداشتن به مدت ۲ دقیقه انجام می شود. (غیر از لوله توتال)

۶ با استفاده از دستگاه گاماکانتر 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 1 به 5 رقیق شود و سپس بعد از 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 25λ از استانداردها، کنترل سرم و نمونه بیمار را به داخل هر لوله اضافه می کنیم. (به جز لوله توتال).
استاندارد، کنترل و نمونه حجم 25 λ

۳ 100 λ از ردیاب یا Tracer را به تمام لوله ها اضافه می کنیم.
100 λ Tracer

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