

CA125 [¹²⁵I] IRMA készlet (REF: RK-125CT és RK-125CT50)

A CA125 IRMA készlet humán szérumban CA125 tumor-asszociált antigén tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0 - 500 U/mL mérési tartományban (**RK-125CT** 100 csöves kiserelés, az **RK-125CT50** pedig 50 csöves kiserelés). A készlet 100 ill. 50 meghatározásra elegendő reagenst tartalmaz, amellyel két párhuzamos mérés esetén 42 (RK-125CT) ill. 17 (RK-125CT50) minta CA125 koncentrációja határozható meg.

Bevezetés

A CA125 egy nagy molekulatömegű (200 – 1000 kDa), mucin típusú glikoprotein, amelyet eredetileg az OC125 monoklonális antitesttel definiáltak (Bast et al., J Clin Invest 68:1331-1337, 1981).

A CA125 a legtöbb nem mucinózus epiteliális petefészek carcinomában képződik. Magas szérumban szintek főleg petefészekrákban fordulnak elő, de más tumoroknál (emlő, colon, tüdő, méh, hasnyálmirigy, máj) és nem rosszindulatú betegségekben és élettani körülményekben (endometriosis, pericarditis, cirrhosis, terhesség első trimesztere, menses) is mérhetünk emelkedett koncentrációkat.

Mivel a CA125 kimutatása nem elég specifikus és szenzitív a betegség korai időszakában, populáció szűrésére nem alkalmas. Klinikai jelentősége leginkább a petefészekrák differenciál-diagnosztikájában, a kezelés monitorozásában, az első vonalbeli terápia utáni recidívák korai felismerésében és a remisszióban lévő betegek hosszútávú nyomon-követésében rejlik.

A mérés elve

A készlet működése a szilárd fázisú immunoradiometrikus assay (IRMA) elvén alapul. Ehhez két olyan monoklonális antitest szükséges, amelyek a molekula két különböző epitopját ismerik fel. A két antitest egyike radiojódval jelzett, ún. „signal” antitest (OC125*), a másik biotinnal konjugált, ún. „capture” antitest (M11*).

A bevont csöves rendszerek jelen változatában az antigénnek a két antitesttel kialakult immunkomplexe („szendvics”) a reaktív kémcső felületén mint szilárd fázison kötődik meg. A 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 CA125 koncentrációjával. Az ismert koncentrációjú standardok kötési értékei alapján szerkesztett kalibrációs görbéről az ismeretlen minták CA125 koncentrációját kötési értékeik alapján visszaolvassuk.

*Fujirebio Diagnostics Inc. antitestek



A készlet tartalma

- 1 flakon (11 mL) TRACER, ¹²⁵I-dal és biotinnal konjugált CA125-antitestek pufferes oldatban, radioaktivitása <980 kBq, 0,1 % nátrium-azidot és vörös színezéket tartalmaz.
- 1 flakon (10 mL) NULLA STANDARD (S0). Ló szérumban, 0,1% nátrium-azidot tartalmaz.
- 5 üveg STANDARD (5 x 1 mL) humán szérumban, koncentrációjuk (S1–S5): 15, 30, 80, 200, 500 U/mL, nátrium-azidot tartalmaz. A *standard kalibráció a Fujirebio Diagnostics Inc. CA125II RIA módszerrel történt.*
- 2 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM (1 mL), humán szérumban, 0,1% nátrium-azidot tartalmaz. Koncentrációját a minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.
- RK-125CT**: 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, **RK-125CT50**: 1 doboz BEVONT CSŐ, 1x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt műanyag dobozban.
- 1 flakon (20 mL) MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM, 700 mL desztillált vízzel hígítandó, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz

1 db Minőségellenőrzési bizonylat

1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

- kémcsőtartó, rugalmas kémcsőrogzító kiképzésben
- 100 µL pipetta, eldobható műanyag hegyekkel
- 100 µL ismétlő pipetta (sorozat-adagoló)
- 1 literes folyadéküveges leosztó (diszpenzer) 2 mL adagolási térfogatra
- rázógép
- kémcsőzáró műanyag fólia
- papírvatta vagy itatóspapír
- gamma-számláló

A mérendő minták gyűjtése és tárolása

Amennyiben a CA125 meghatározás a mintavételt követő 24 órán belül megtörténik, a mintákat 2-8°C-on, későbbi felhasználás esetén -20°C-on fagyaszttva tartjuk. Kerüljük a minták ismételt visszafagyasztását!

Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumot ne használjunk mérésre. A *legmagasabb (S5) standard értéknél magasabb koncentrációjú mintákat a nulla standarddal történő tízszeres hígítás után ismételtelen mérjük meg.*

A reagensek előkészítése, tárolása

A mosóoldat koncentrátumot öntsük hozzá 700 mL desztillált vízhez. A hígított mosóoldatot 2-8°C -on tároljuk a készlet lejáratiáig.

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.

FIGYELEM!

A mérés megkezdése előtt a reagens oldatokat illetve a mérendő mintákat engedjük szobahőmérsékletre melegedni és alaposan homogenizáljuk. Kerüljük el a habzást.

A meghatározás menete

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

1.	Jelöljük meg két-két csövet: standard (S0-S5), ellenőrző szérumban (CI, CII); vizsgálandó minták (Mx). A total beütésszám mérésére két nem bevont csövet célszerű feliratozni.
2.	Mérjük meg 100 µL standardot, ill. ellenőrző szérumot és szérummintát a megfelelő csövekbe.
3.	Mérjük meg minden csöbe 100 µL tracer oldatot.
4.	Helyezzük a csöveket rögzítős kémcsőtartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 2 órán át szobahőmérsékleten (min. 600 rpm).
5.	Adjunk minden csövhöz 2 mL mosópuffert, majd a csőtartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülúszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percre.
6.	Ismételjük meg kétszer a mosási lépést az 5. pontnak megfelelően.
7.	Mérjük meg a csövek radioaktivitását 60 másodpercig gamma-számlálóval és számítsuk ki az eredményeket az alábbiak szerint.

1.Táblázat Folyamatábra, pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

	T	S0-S5	Ell. szérumban	Minta
Standard		100		
Ell. szérumban			100	
Minta				100
Tracer	100	100	100	100
Kevertetés 2 órán át szobahőmérsékleten				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Mosási lépés ismétlése 2-szer				
Radioaktivitás mérés (min. 60 sec/cső)				
Adatfeldolgozás				

Rövidített inkubációs idejű mérés (opcionális protokoll)

Az inkubációs idő 60 percre mérsékelhető.

A mérési eredményeket az alábbi táblázat tartalmazza (friss és öregedő tracer használata esetén):

Tracer rázatás	4 hetes		Friss	
	2 óra	1 óra	2 óra	1 óra
T	206237	210354	409715	410542
S0	584	560	770	636
S1	2038	1607	3736	3001
S2	3358	2769	6684	5844
S3	7744	6548	16940	15032
S4	17810	16225	41371	36454
S5	42288	35869	96341	84572

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:

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

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.

2. Táblázat Jellemző mérési eredmények

Csővek	Átlag cpm	B/T%	CA125 U/mL
T	291557		
S0	278	0,1	
S1	2177	0,7	
S2	3610	1,2	
S3	8361	2,9	
S4	20729	7,1	
S5	46876	16,1	
CI	5642	1,9	51,7
CII	10973	3,8	105,9

Minőségi jellemzők

Specifititás

A készletben használt antitestek garantálják a CA125-re teljesen specifikus mérést.

Érzékenység

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

Limit of Blank (LoB): 0,56 U/mL

Limit of Detection (LoD): 1,08 U/mL

Eredmény közlés szempontjából: ha a mérési eredmény az LoB alatt van, a mintában nem detektálható a CA125. Ha az eredmény az LoB és LoD között van, a CA125 detektálható, koncentrációja < 1,08 U/mL.

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 20 párhuzamossal egy sorozaton belül, az inter-assay pontosságot 2 párhuzamossal, 20 független mérésben határoztuk meg, 4 szérum pool segítségével.

Intra-assay		Inter-assay	
Átlag (U/mL)	CV%	Átlag (U/mL)	CV%
24,39	1,99	24,31	5,71
44,26	1,42	44,67	3,11
154,59	2,31	157,0	3,12
305,87	1,98	316,42	2,80

Hígítási teszt

Hat szérumminta nulla standarddal végzett sorozat-hígításakor a várt (x) és a mért (y) koncentrációértékek között az alábbi lineáris összefüggés adódott:

$$y = 0,9899x - 4,2376 \quad R^2 = 0,9967 \quad n = 20$$

Az átlag visszanyerés hígítás után 92,6% volt.

Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")

A mérés során 3 db egyedi humán szérum mintába ismert mennyiségű CA125-t vittünk be három különböző koncentrációban és vizsgáltuk a kiindulási és a megemelkedett koncentráció szinteket. Az átlag visszanyerés 103,37% volt (99% – 107%).

Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 25000 U/mL alatt nem jelentkezik.

Várható referens tartomány

408 vélhetően egészséges, nem terhes női szérumminta vizsgálata alapján a következő eredményeket kaptuk:

Összes minta	408
Átlag (U/mL)	16,53
Medián (U/mL)	14,03
Minták < 35 U/mL	386 (94,6%)
Minták < 55 U/mL	404 (99,0%)

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

Összehasonlító mérés

A CA125 IRMA-t (y) összehasonlítottuk a Fujirebio Diagnostics Inc. CA125II RIA (x) módszerével 135 db, 5 – 500 U/mL közötti minta mérésével. A következő lineáris összefüggést találtuk a két módszer között:

$$y = 1,0168x + 1,0221 \quad R^2 = 0,9442$$

Megjegyzések, tanácsok

1) A különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó CA125 készletének komponenseivel.

2) **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").

3) **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!

Az assay korlátai

- A CA125 meghatározás nem használható a petefészekrák szűrésére.
- 35 U/mL feletti értékek előfordulhatnak jóindulatú betegségekben és fiziológiás állapotokban.
- A CA125 35 U/mL alatti koncentrációja nem zárja ki a reziduális daganatot.

- A mérési eredmények csak a vonatkozó klinikai eredményekkel együtt használhatók fel.
- Az olyan betegekben származó minták, akik diagnosztikai vagy terápiás célokra kaptak valamilyen eger immunoglobulin készítményt, humán anti-eger antitesteket (HAMA) tartalmazhatnak. Ezek a minták okozhatnak hibás eredményeket.

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 kitben levő humán szérumot tartalmazó komponensek előállításához használt szérum HIV(1/2) antitest, HBsAg antigén, Hepatitisz-C antitest és Treponema antitest 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. Minden állati terméket és származékot egészséges állatokból nyerték. 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 38,5 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.

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

REF Katalógus szám



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

*Jogi figyelmeztetés

A CA125TM a Fujirebio Diagnostics Inc. (FDI) védjegye. Jelen CA125 IRMA készlet az OC125 és M11 monoklonális antitestek használatán alapszik, amelyek kizárólag az FDI és forgalmazóin keresztül elérhetők.