

## CA19-9 [I-125] IRMA készlet (REF: RK-199CT és RK-199CT50)

A CA19-9 IRMA készlet humán szérumban CA19-9 tumor-asszociált antigén tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0 - 240 U/mL mérési tartományban. A készlet 100 ill. 50 meghatározásra elegendő bevont csövet tartalmaz, amellyel két párhuzamos mérés esetén 42 (RK-199CT) vagy 17 (RK-199CT50) minta CA19-9 koncentrációja határozható meg.

### Bevezetés

A CA19-9 egy nagy molekulatömegű, mucinszerű, tumorasszociált sejt felszíni glikoprotein antigén, amelyet eredetileg az 1116NS19-9 monoklonális antitesttel definiáltak.

A teszt azon betegek esetén alkalmas a betegség követésére, akiknél hasnyálmirigy rákot igazoltak és a diagnózis időpontjában a CA19-9 szint a vérben meghaladta a 37 U/ml értéket. Lewis negatív vércsoportba tartozó személyek esetén a mintából még akkor sem mutatható ki CA19-9, ha az emésztő rendszerben igazolható a rák valamelyik formája. A CA19-9 elsősorban a hasnyálmirigy rák esetén alkalmas a terápia monitorozására.

*Mivel a CA19-9 kimutatása nem elég specifikus és szenzitív, populáció szűrésére nem alkalmas!*

### A mérés elve

A készlet működése a szilárd fázisú immunoradiometrikus assay (IRMA) elvén alapul, ám a szokványos szendvics képződés helyett ez esetben ún. monoszendvics jön létre. A mérés során a specificitást a 1116NS19-9\* monoklonális antitest biztosítja. A CA19-9 molekula felszínén több, egymástól térben kellően távol fekvő azonos epitóp található. A reakció első lépésében biotinnal kapcsolt monoklonális antitest (1116NS19-9\*-*ld. jogi figyelmeztetés!*) reagál a mintában lévő CA19-9 antigénnel. Az antitest egyidőben a biotin részen keresztül a cső falát borító sztreptavidin réteghez kötődik. Mosást követően radiojóddal jelzett monoklonális antitest (1116NS19-9\*) reagál az első lépésben a csőhöz kötött CA19-9-cel.

A 2 x 1 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 CA19-9 koncentrációjával. Az ismert koncentrációjú standardok kötési értékei alapján szerkesztett kalibrációs görbéről az ismeretlen minták CA19-9 koncentrációját kötési értékeik alapján visszaolvassuk.

\*Fujirebio Diagnostics Inc. antitestek



**\*Jogi figyelmeztetés:** A CA19-9™ a Fujirebio Diagnostics Inc. (FDI) védjegye. Jelen CA19-9 IRMA készlet az 1116NS19-9 monoklonális antitestek használatán alapszik,

amelyek kizárólag az FDI és forgalmazóin keresztül elérhetők.

### A készlet tartalma

- 1 flakon (21 mL) TRACER, <sup>125</sup>I-dal jelzett CA19-9-antitestek pufferes oldatban, radioaktivitása <980 kBq, Kathon CG-t és vörös színezéket tartalmaz.
- 1 flakon (11 mL) ANTISZÉRUM, biotinnal kapcsolt CA19-9-antitestek pufferes oldatban, Kathon CG-t és kék színezéket tartalmaz.
- 2 flakon (2,5 mL) HÍGÍTÓ SZÉRUM (S0). Kathon CG-t tartalmaz.
- 5 üveg STANDARD (5 x 1,0 mL) humán szérumban, Kathon CG-t tartalmaz. A standardok koncentrációját a minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.
- 2 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM CI, CII, (1,0 mL) humán szérumban, Kathon CG-t tartalmaz. Koncentrációját a minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.
- RK-199CT:** 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, **RK-199CT50:** 1 doboz BEVONT CSŐ, 1x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt műanyag dobozban.
- 1 flakon (20 mL) MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM, 1200 mL desztillált vízzel hígítandó, Kathon CG-t 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, 200 µL ismétlő pipetta (sorozat-adagoló), 1 literes folyadéküveges leosztó (diszpenzer) 2 mL adagolási térfogatra, rázógép, kémcsőzározó műanyag fólia, papírvatta vagy itatóspapír, gamma-számláló

### A mérendő minták gyűjtése és tárolása

Amennyiben a CA19-9 meghatározás a mintavételt követő 24 órán belül megtörténik, a mintákat 2-8°C-on, későbbi felhasználás esetén -20°C-on fagyaszta 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 ismételt mérjük meg.*

### A reagensek előkészítése, tárolása

A mosóoldat koncentrátumot öntsük hozzá 1200 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.

### 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*)

- Jelöljük meg két-két csövet: standard (S0, S1-S5), ellenőrző szérum (CI, CII); vizsgálandó minták (Mx). A total beütésszám mérésére két nem bevont csövet célszerű feliratozni.
- Mérjük **100 µL** standardot, ill. ellenőrző szérumot és szérummintát a megfelelő csövekbe.
- Mérjük minden csőbe **100 µL** antiszérum oldatot.
- Helyezzük a csöveket rögzítős kémcsőtartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 1 órán át szobahőmérsékleten (min. 600 rpm).
- Adjunk minden csőhöz **2 mL mosópuffert**, majd a csőtartót fejfel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülűszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percre.
- Ismételjük meg a mosási lépést az 5. pontnak megfelelően.
- Mérjük minden csőbe **200 µL** tracer oldatot.
- Helyezzük a csöveket rögzítős kémcsőtartó állványba. Állítsuk be a sebességet úgy, hogy a folyadék valamennyi kémcsőben mozgásban legyen. Kevertessük 1 órán át szobahőmérsékleten (min. 600 rpm).
- Adjunk minden csőhöz **2 mL** mosópuffert, majd a csőtartót fejfel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülűszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percre.
- Ismételjük meg kétszer a mosási lépést az 9. pontnak megfelelően.
- 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. szérum	Minta
Standard/Hígító szérum		<b>100</b>		
Ell. szérum			<b>100</b>	
Minta				<b>100</b>
Antiszérum		<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
Kevertetés 1 órán át szobahőmérsékleten				
Mosópuffer		<b>2000</b>	<b>2000</b>	<b>2000</b>
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Mosási lépés ismétlése 1-szer				
Tracer	<b>200</b>	<b>200</b>	<b>200</b>	<b>200</b>
Kevertetés 1 órán át szobahőmérsékleten				
Mosópuffer		<b>2000</b>	<b>2000</b>	<b>2000</b>
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 2 x 30 percre mérsékelhető.

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

Tracer	4 hetes		Friss	
	60' + 60'	30' + 30'	60' + 60'	30' + 30'
T	205625	203818	383994	392467
S0	202	148	181	136
S1	929	758	1975	1570
S2	2424	1949	5374	4418
S3	5007	4139	11343	9542
S4	10711	8409	23700	19947
S5	19766	15966	46117	37960

### 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 DS beütésszámával) korrigált értékeket osztjuk a totál aktivitással az alábbi egyenlet szerint:

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

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("on-line") 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

Cső	Átlag cpm	B/T%	CA19-9 U/mL
T	251 744		
S0	475	0,2	
S1	1 781	0,7	
S2	3 685	1,5	
S3	7 721	3,1	
S4	15 077	6,0	
S5	29 361	11,7	
CI	4 921	2,0	39,3
CII	10 062	4,0	78,3

### Minőségi jellemzők

#### Specifitás

A készletben használt Fujirebio antitestek garantálják a CA19-9-re teljesen specifikus mérést. Jelentős keresztreaktivitás nem mérhető 3022,5 U/mL CA125, 690,7 U/mL CA15-3, 1200 U/mL CA72-4 és 15300 ng/mL CEA esetén.

#### Érzékenység

Meghatároztuk a Limit of Blank (LoB), Limit of Detection (LoD) and Limit of Quantitation (LoQ) érzékenységi mutatókat is a CLSI EP17 előírás szerint.

Limit of Blank (LoB): 0,94 U/mL  
Limit of Detection (LoD): 1,85 U/mL  
Limit of Quantitation (LoQ): 3,0 U/mL

#### Pontosság

Az intra-assay pontosságot 20 párhuzamossal egy sorozaton belül, az inter-assay

pontosságot 2 párhuzamossal, 54 független mérésben határoztuk meg, 3 szérumsó pool segítségével.

Intra-assay		Inter-assay	
Átlag (U/mL)	CV%	Átlag (U/mL)	CV%
2,15	8,5	2,11	10,8
36,5	6,1	35,17	5,8
216,4	2,0	189,81	4,9

#### Hígítási teszt

Öt szérumsó minta hígító szérumsóval végzett sorozat-hígításakor a várt (Y) és a mért (X) koncentrációértékek között az alábbi lineáris összefüggés adódott:

$$Y = 0,9723X - 1,5706 \quad R^2 = 0,9963 \quad n = 15$$

Az átlag visszanyerés hígítás után 108 % volt.

#### Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")

A mérés során 6 db egyedi humán szérumsó mintába ismert mennyiségű CA19-9-t vittünk be három különböző koncentrációban és vizsgáltuk a kiindulási és a megemelkedett koncentráció szinteket. Az átlag visszanyerés 93,83% volt (86,7% – 101,1%).

#### Interferencia:

A CLSI EP7-A2 Guide alapján elvégzett interferencia vizsgálat azt mutatta, hogy a minták 0,4 g/L bilirubin, 15,0 g/L triglycerid, 10,0 g/L haemoglobin és 50 ng/mL biotin tartalom esetén nem befolyásolják a mérendő CA19-9 koncentrációt.

#### Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 1 500 000 U/mL alatt nem jelentkezik.

#### Várható referens tartomány

494 vélhetően egészséges szérumsó minta vizsgálat alapján a következő eredményeket kaptuk:

Összes minta	494
Átlag (U/mL)	4,87
Medián (U/mL)	3,22
Minták = 0 U/mL	39
Minták < 37 U/mL	493

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

#### Összehasonlító mérés

A CA19-9 IRMA-t (y) összehasonlítottuk a Fujirebio Diagnostics Inc. CA19-9 RIA (x) módszerével 60 db, 0 – 240 U/mL közötti minta mérésével. A következő lineáris összefüggést találtuk a két módszer között:

$$Y = 1,106 * X - 1,524 \quad R^2 = 0,893$$

#### Megjegyzések, tanácsok

1) A különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó CA19-9 készletének komponenseivel.

2) **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.

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 CA19-9 meghatározás nem használható a hasnyálmirigy rák szűrésére.
- 37 U/mL feletti értékek előfordulhatnak jóindulatú betegségekben és fiziológiai állapotokban.
- A CA19-9 37 U/mL alatti koncentrációja nem zárja ki a daganatot.
- A mérési eredmények csak a vonatkozó klinikai eredményekkel együtt használhatók fel.
- Az olyan betegekből származó minták, akik diagnosztikai vagy terápiás célokra kaptak valamilyen egér immunoglobulin készítményt, humán anti-egér 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 védőeszközök esetleges sérülése esetén a radioaktív anyagok tárolására, felhasználására, és kezelésére vonatkozó törvényi szabályozás és hatósági előírások szerint járjanak el.

##### Fertőzésveszély

A kitben levő humán szérumsó tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérumsó HIV(1/2) antitest, HBsAg antigén, Hepatitisz-C antitest és Treponema antitest vizsgálatra negatív eredményt adott. Ennek ellenére a humán szérumsó 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 Kathon CG-t tartalmaznak. A készlet összes Kathon CG tartalma 64 mg.

	Lejárat idő	<b>CONTROL</b>	Kontrol
	Gyártási szám	<b>CAL</b>	Standard
	Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok	<b>CT</b>	Bevont cső
	Biológiai veszély	<b>TRAC</b>	Tracer
	Lásd használati utasítás	<b>WASHB</b>	Mosópuffer
	In vitro diagnosztikai eszköz		Radioaktív anyag
	Gyártó		2-8°C-on tárolandó
<b>REF</b>	Katalógus szám	<b>AS</b>	Antiszérumsó

WEB oldal: <http://www.izotop.hu>

Technikai e-mail: <mailto:immuno@izotop.hu>

Kereskedelmi e-mail: [commerce@izotop.hu](mailto:commerce@izotop.hu)

**IZOTOP**

IZOTÓP INTÉZET KFT.

H-1121 Budapest, Konkoly-Thege Miklós út 29-33.

☒ H-1535 Budapest, Pf. 851

T. +36 1 3959081

F. +36 1 3959247

