

CYFRA 21.1 [¹²⁵I] IRMA készlet

(REF: RK-211CT és RK-211CT50)

A CYFRA 21.1 IRMA készlet humán szérumban Cytokeratin 19 fragmentumok *in vitro* mennyiségi meghatározására szolgál, a 0 - 60 ng/mL mérési tartományban. A készlet 100 ill. 50 meghatározásra elegendő bevont csövet tartalmaz, amellyel két párhuzamos mérés esetén 42 (RK-211CT) ill. 17 (RK-211CT50) minta CYFRA 21.1 koncentrációja határozható meg.

Bevezetés

A Cytokeratin 19 a több mint 20 féle cytotokeratinból álló polipeptid család egyik tagja, amely a hámsejtek közbülső szálhálózatában található. Ez egy sav-típusú citoplazmatikus fehérje, melynek molekulásúlya 40000 Dalton. A cytotokeratinok rosszul oldódnak, de a proteolitikus bomlás következtében vízoldható fragmentumok bekerülnek a véráramlásba.

A CYFRA 21.1 IRMA a humán szérumban Cytokeratin 19 fragmentumok mennyiségi meghatározására szolgál. A meghatározás 2 monoklonális antitest használatán alapul: a BM19.21* és a KS19.1*, amelyek a molekula C-terminál részének 2 különböző epitopját ismerik fel.

Emelkedett CYFRA 21.1 koncentráció főleg a nem-kissztes tüdőrákos betegeknél tapasztalható. Klinikai jelentősége leginkább a prognózisban, a terápia monitorozásában, és a hosszú-távon nyomon követett betegek esetén a visszaesés korai felismerésében rejlik. A Cyfra 21.1 készlet rákszűrésre nem alkalmazható!

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 (BM19.21*), a másik biotinnal konjugált, ún. „capture” antitest (KS19.1*).

A bevont csöves rendszerek jelen változatában az antigénnek a két antitesttel kialakult immunkomplexe („szendvics”) a reaktív kémcső felületén mint szilárd fázison kötődik meg. Az egy éjszakán át történő reakciót követően a reakcióelegyet a kémcsőből kiöntjük, és pufferes mosás után gamma-számlálóval mérjük a radioaktivitást.

A kémcsövekben mért radioaktivitás egyenesen arányos a rendszerben lévő CYFRA 21.1 koncentrációjával. Az ismert koncentrációjú standardok kötési értékei alapján szerkesztett kalibrációs görbéről az ismeretlen minták CYFRA 21.1 koncentrációját kötési értékeik alapján visszaolvassuk.

*Fujirebio Diagnostics Inc. antibodies

**A készlet tartalma**

- 1 flakon (11 mL) TRACER, ¹²⁵I-dal jelzett és biotinnal konjugált CYFRA 21.1-antitestek pufferes oldatban, radioaktivitása <980 kBq, 0,1 % NaN₃-t és vörös színezéket tartalmaz.
- 1 flakon (10 mL) DILUENS (D). Ló szérumban, 0,1% NaN₃-t tartalmaz.
- 6 üveg liofilizált STANDARD (6 x 1,0 mL, S0-S5), ló (S0) illetve humán (S1-S5) szérumban, 0,1% Kathon-CG-t tartalmaz. A standardok koncentrációját a minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza. *A standard kalibráció a Fujirebio Diagnostics Inc. CYFRA 21.1 RIA módszerrel történt.*
- 2 üveg liofilizált ELLENŐRZŐ SZÉRUM (2 x 1,0 mL, CI-CII), humán szérumban, 0,1% Kathon-CG-t tartalmaz. Koncentrációját a minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.
- RK-211CT:** 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, **RK-211CT50:** 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, 0,2 % NaN₃-t tartalmaz
1 db Minőségellenőrzési bizonylat
1 db Használati utasítás

A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

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

A mérendő minták gyűjtése és tárolása

Amennyiben a CYFRA 21.1 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 szérumban ne használjunk mérésre.

A legmagasabb (S5) standard értéknél magasabb koncentrációjú mintákat a diluenssel történő tízszeres hígítás után ismételtelen mérjük meg.

A reagensek előkészítése, tárolása

A Tracert közvetlenül használat előtt vegyük ki a 2-8°C-os hűtőszekrényből.

Oldjuk fel a standardok és ellenőrző szérumban tartalmát 1 mL desztillált vízzel, 20 perc után óvatosan homogenizáljuk az üvegek tartalmát fordítással vagy rövid vortex-keveréssel. **További felhasználásig -20 °C-on tároljuk.**

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

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 100 µL standardot, ill. ellenőrző szérumban és szérumban mintát a megfelelő csövekbe.
3. Mérjük minden csőbe 100 µL tracer oldatot. Óvatosan kevertessük a csövek tartalmát.
4. Fedjük le a csöveket és inkubáljuk egy éjszakán át (18 - 22 óra) 2 - 8°C-on.
5. Adjunk minden csőhöz 2 mL mosópuffert, majd a csőtartót fejfelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülúszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszaforítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig.
6. Ismételjünk 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	CI-CII	Minta
Standard		100		
Ell. szérumban			100	
Minta				100
Tracer	100	100	100	100
Inkubálás egy éjszakán át 2 - 8°C-on				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Mosási lépés ismétlése 2-szer				
Radioaktivitás mérés (min. 60 sec/cső)				
Adatfeldolgozás				

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:

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

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("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%	CYFRA 21.1 ng/mL
T	304068		
S0	812	0,3	0
S1	4026	1,3	1,1
S2	10446	3,4	4,7
S3	25735	8,5	13
S4	52315	17,2	27
S5	99240	32,6	54
CI	11438	3,8	5,3
CII	31914	10,5	16,3

Minőségi jellemzők

Specifititás

A készletben használt antitestek garantálják a CYFRA 21.1-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): 0,035 ng/mL

Limit of Detection (LoD): 0,24 ng/mL

Eredmény közlés szempontjából: ha a mérési eredmény az LoB alatt van, a mintában nem detektálható a CYFRA 21.1. Ha az eredmény az LoB és LoD között van, a CYFRA 21.1 detektálható, koncentrációja < 0,24 ng/mL.

Pontosság

Az intra-assay pontosságot 20 párhuzamossal egy sorozaton belül, az inter-assay pontosságot 2 párhuzamossal, 12 független mérésben határoztuk meg, 3 szérum pool segítségével.

Intra-assay		Inter-assay	
Átlag (ng/mL)	CV%	Átlag (ng/mL)	CV%
1,11	4,16	1,31	9,25
4,37	7,48	5,52	8,77
21,27	7,05	26,3	6,98

Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 400 ng/mL alatt nem jelentkezik.

Várható referens tartomány

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

200 vélhetően egészséges, véradás szérummintát vizsgáltuk. Az összes minta koncentrációja kisebb volt, mint 2.0 ng/mL.

Összehasonlító mérés

A CYFRA 21.1 IRMA-t (y) összehasonlítottuk a Fujirebio Diagnostics Inc. CYFRA 21.1 IRMA (x) módszerével 98 db, 0 – 60 ng/mL közötti minta mérésével. A következő lineáris összefüggést találtuk a két módszer között:

$$Y = 1,0314X + 0,0762 \quad R^2 = 0,9814$$

Megjegyzések, tanácsok

1) A különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó CYFRA 21.1 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").

Az assay korlátai

- A CYFRA 21.1 meghatározás nem használható a tüdőrák szűrésére.
- 2 ng/mL feletti értékek előfordulhatnak jóindulatú betegségekben is.
- A CYFRA 21.1 2 ng/mL alatti koncentrációja nem zárja ki a reziduális daganatot.
- A mérési eredmények csak a vonatkozó klinikai eredményekkel együtt használhatók fel.
- Az olyan betegekből származó minták, akik diagnosztikai vagy terápiás célokra kaptak valamilyen eger immunglobulin készítményt, humán anti-egér antitesteket (HAMA) tartalmazhatnak. Ezek a minták hibás eredményeket okozhatnak.

Biztonsági óvórendszabályok

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 felhasznált 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 61 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.

	Lejárat 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	DIL	Diluens
	Gyártó		Radioaktív anyag
REF	Katalógus szám		2-8°C-on tárolandó



Website: <http://www.izotop.hu>

Technical e-mail: immuno@izotop.hu

Commercial e-mail: commerce@izotop.hu

IZOTOP

INSTITUTE OF ISOTOPES Ltd.

1535 Budapest. Pf.: 851.

Tel.: (36-1)392-2577, Fax: (36-1)395-9247

Jogi figyelmeztetés

A CYFRA 21.1™ a Fujirebio Diagnostics Inc. (FDI) védjegye. Jelen CYFRA 21.1 IRMA készlet az BM19.21 és KS19.1 monoklonális antitestek használatán alapszik, amelyek kizárólag az FDI és forgalmazóján keresztül elérhetők.

