

## hCEA [I-125] IRMA készlet (REF: RK-38CT)

A <sup>125</sup>I-hCEA IRMA készlet humán szérumban carcinoembrionális antigén (hCEA) tartalmának *in vitro* direkt meghatározására szolgál, a 0 - 180 ng/ml mérési tartományban. A készlet 100 meghatározásra elegendő reagenst tartalmaz, amellyel két párhuzamos mérés esetén 41 minta hCEA koncentrációja határozható meg.

### Bevezetés

A Carcino-embriális antigén (hCEA) kb. 180-200kD molekulásúlyú sejtfelszíni glikoprotein ami az embrionális fejlődés során a pankreasban és a gastrointestinalis traktusban képződik. Felnőtt korban a CEA szintézis lényegesen csökken. Emelkedett CEA érték fordulhat elő néhány jóindulatú megbetegedésben pl. hepatitis, pankreatitis, gastritis, bronchitis, cirrhosis, diverticulitis valamint erős dohányosok esetében.

Emelkedett CEA koncentráció figyelhető meg különböző daganatos megbetegedésekben (colorectális, pankreasz, tüdő, emlő, egyéb gastrointestinalis, nőgyógyászati, medulláris pajzsmirigy carcinoma).

A rák korai, tünetmentes állapotban való felismerésére illetve szűrésre a CEA nem alkalmas a jóindulatú betegségeknél mért emelkedett koncentráció miatt valamint mert nem mutat lokalizációs specificitást. Jól alkalmazható a daganatos betegségek monitorozására és a terápia követésére. Magasabb preoperatív CEA szint rosszabb prognózist jelent. A postoperatív magas CEA koncentráció reziduális tumorra utal. A műtétet követően normalizálódott CEA szint hirtelen növekedéséből metasztázis jelenlétére lehet következtetni.

### A mérés elve

A mérőkészlet a szilárd fázisú immunoradiometrikus assay (IRMA) működési elvét alkalmazza. Ehhez két olyan monoklonális antitest szükséges, amelyek a molekula két különböző epitopját ismerik fel. A két antitest egyike radiojóddal jelzett (jelző antitest), a másikuk jelöletlen (ún. "capture" antitest). A bevont csöves rendszerek jelen változatában az antigénnek a két antitesttel kialakult immunkomplexe ("szendvics") reaktív kémcső felületén mint szilárd fázison kötődik meg. 2 órás reakcióidőt követően a reakcióelegyet a kémcsőből kiöntjük, és pufferes mosás után gamma-számlálóval mérjük a radioaktivitást. A kémcsővekben mért radioaktivitás egyenesen arányos a rendszerben lévő hormon koncentrációjával. Az ismert koncentrációjú standardok kötési értékei alapján szerkesztett kalibrációs görbéről az ismeretlen minták koncentrációit kötési értékeik alapján visszaolvassuk.

### A készlet tartalma

- 1 flakon <sup>125</sup>I-TRACER (21 ml), pufferes oldat radioaktivitása < 740 kBq, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.
- 7 üveg STANDARD (7 x 1 ml), humán szérumban, 0,1 % nátrium-azid tartósítással, koncentrációjuk (S0 - S6): 0, 1,6\*, 3, 10, 30, 90, 180 ng/ml. (WHO 1<sup>st</sup> IS 73/601

Nemzetközi referencia standard-re kalibrálva).

(\*A pontos S1 koncentráció a címkén található.)

3. 1 flakon HIGÍTÓ SZÉRUM (5 ml), 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz lószérumban.

4. 2 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM, (2 x 1 ml) alacsony (CI), magas (CII); humán szérumban 0,1% nátrium-azid tartósítással. Koncentrációját a kísérő minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.

5. 2 doboz BEVONT CSŐ, 2 x 50 db, 12 x 75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt műanyag dobozban.

6. MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM, (20 ml), 0,2 % nátrium-azid tartósítással, 700 ml desztillált vízzel hígítandó.

1 db Minőségellenőrzési bizonylat  
1 db Használati utasítás

### A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

Kémcsőtartó, rugalmas kémcsőörögzőtő kiképzésben, pipetták (50µl, 200µl és 2 ml térfogatra, eldobható műanyag hegyekkel), rázógép, örvénykeverő (vortex), kémcsőzáró műanyag fólia, papírvatta vagy itatóspapír, desztillált víz, gamma-számláló.

#### Ajánlott:

Sorozat-adagoló (ismétlő) pipetta; folyadéktüveges leosztó (diszpenzer), 1 literes folyadékedénnyel, 2 ml adagolási térfogatra.

### A mérendő minták gyűjtése és tárolása

Amennyiben a CEA meghatározás a mintavételt követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat 2-8°C-on, későbbi felhasználás esetén -20°C-on mélyhűtve tartjuk. A fagyasztott mintákat hagyjuk felolvadni, és felhasználás előtt alaposan homogenizáljuk. Kerüljük az ismételt visszafagyasztást. Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumban nem használunk mérésre.

A legmagasabb standard értéknél magasabb koncentrációjú mintákat a mintahígítóval történő tízszeres hígítás után ismételtlen mérjük meg.

### A reagensek előkészítése, tárolása

A készlet komponensei az első felnyitást követően 2-8°C -on tárolhatóak a készlet lejárati idején belül. A pontos lejárati idő a kísérő bizonylaton és a dobozcímkén van feltüntetve.

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

#### FIGYELEM!

A mérés megkezdése előtt a reagens oldatokat, és a mérendő mintákat is engedjük szobahőmérsékletre melegedni.

### A meghatározás menete

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

1. Jelöljük meg két-két bevont csövet a standardok (0-180 ng/ml), a kontrollok és a minták számára. A total beütésszám mérésére két nem bevont csövet célszerű feliratozni.

2. Homogenizáljunk minden reagenst és a mérendő mintákat enyhe vortexeléssel, ügyelve a habzás elkerülésére.

3. Pipetázunk 50 µl standardot, ellenőrző szérumban és mintát a megfelelően jelölt bevont csőbe aljába. Használjunk olyan csőtartó állványt, amely szorosan, elmozgásmentesen tartja a csöveket.

4. Pipetázunk be 200 µl tracet minden csőbe. A total csöveket ezután tegyük félre, mert csak a gamma számlálásnál lesz szükség rájuk.

5. A csőtartó állványt rögzítsük a rázógép tálcajára, gumi leszorítóval vagy más módon stabilizálva. A beállított RPM érték 400 - 600 között adja a legalkalmasabb keverési módot, de a rázógép típusától függően ettől eltérhetünk. **(Figyelem, hibaforrás! Kevertetésre csak olyan kémcsőtartó használható, amelyben a csövek rögzítve vannak. "Lötyögős" állványban a kémcsövek tartalma egyáltalán nem, vagy egyenletlenül keveredik, annak ellenére, hogy maga az állvány, és a kémcső mozgásban van. Egyenletlen, illetve tökéletlen keverés teljesen hamis mérési eredményekhez vezethet!)**

6. Inkubáljunk 2 órán át, rázatás közben, szobahőmérsékleten (20 - 25 °C).

7. Adjunk minden csőhöz 2,0 ml mosópuffert. A csőtartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülúszót, majd a tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig. Győződjünk meg arról, hogy a cső peremén nem maradtak folyadékcseppek.

8. Ismételjük meg a 7-es mosási lépést még kétszer.

9. Mérjük meg az egyes csövek radioaktivitását gammaszámlálóval legalább 1 perces számlálási idővel.

10. Értékeljük ki a minta koncentrációkat grafikus módon vagy a számláló szoftver segítségével.

1. Táblázat Folyamatábra, pipettázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

	T	S0-S6	C	M
Standard		50		
Minta			50	
Ell. szérumban				50
Tracer		200	200	200
Kevertetés, 2 óra szobahőmérsékleten				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itatóspapíron				
Radioaktivitás mérés (min. 60 sec/cső)				
Adatfeldolgozás				

### Az eredmények számítása

A számítás menetét jellemző mérési adatokkal szemléltetjük. A kapott számadatoknak, és a kalibrációs görbének hasonlítaniuk kell a 2. táblázathoz, illetve az 1. ábrához. 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.

A gépi adat-kiértékelések, vagy minőségellenőrző mérések általában nem a beütésszámokkal, hanem normált kötési értékekkel számolnak. Erre a B/T értékek használhatók, amelyek számításához a standardok, illetve minták NSB-vel (azaz az  $S_0$  beütésszámával) korrigált értékeit osztjuk a totál aktivitással az alábbi egyenlet szerint:

$$B/T(\%) = \frac{S_{1-6} / C_{I-II} / M_x (\text{cpm}) - S_0 (\text{cpm})}{T(\text{cpm})} \times 100$$

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("on-line") számítógépes adatfeldolgozást is. A sokféle feldolgozó program közül jelen készítményhez speciálisan immunometrikus assayre kifejlesztett spline illesztő program használatát javasoljuk. Ügyeljünk arra, hogy vannak olyan kiértékelő programok, amelyek a 0-standard és az első standard között is interpolálnak, de a számított koncentrációk közül csak azok tekinthetők valósak, amelyek értéke magasabb, mint a mérés statisztikailag meghatározott kimutatási határa (ld. *ÉRZÉKENYSÉG*).

## 2. Táblázat Jellemző mérési eredmények

	hCEA ng/ml	cpm	Átlag cpm	B/T%
T		307879 310574	309211	
S0	0	81 88	85	0,027
S1	1.6	1900 1898	1899	0,59
S2	3	3461 3387	3424	1,08
S3	10	10679 10443	10712	3,44
S4	30	33306 33520	33413	10,78
S5	90	87390 89529	88460	28,58
S6	180	143200 143211	143205	46,28

1. ábra

Tipikus standard görbe (Minta meghatározásra nem használható)

## Minőségi jellemzők

### Specifitás

A készletben alkalmazott monoklonális antitestekkel nem tapasztalható keresztreakció normál fiziológiás koncentrációban levő NCA-val.

### Érzékenység

Jelen készlettel az **analitikai érzékenység** vagy alsó kimutatási határ a 0-standarddal 15 párhuzamos mérésből meghatározva **0,05 ng/ml**, 1 hónapos traccernél. Értéke egyenlő a 0-standard  $B_0+2*SD$  kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

Funkcionális érzékenység alatt azt a legkisebb koncentrációt értjük, amely már szignifikánsan különbözik a zero koncentrációtól az inter-assay precíziós profil statisztikája alapján (22 % CV).

A **funkcionális érzékenység: < 0,4 ng/ml**.

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): 0,09 ng/mL

### Pontosság

Az intraassay pontosságot 10 párhuzamossal egy sorozaton belül, 5 mintára az alábbi adatokat kaptuk.

Minta	Párhuzamos száma	Átlag ng/ml	SD ng/ml	CV %
1	10	3,12	0,12	4,0
2	10	5,01	0,05	3,1
3	10	34,16	0,41	1,2
4	10	52,20	1,36	2,6
5	10	80,06	1,12	1,4

### Reprodukálhatóság

Az interassay pontosságot 3 párhuzamossal, 15 független mérésben értékelve, 5 mintára az alábbi adatokat kaptuk.

Minta	Mérés száma	Átlag ng/ml	SD ng/ml	CV %
1	15	0,40	0,04	9,52
2	15	3,01	0,18	6,00
3	15	11,13	0,59	5,29
4	15	22,30	0,97	4,37
5	15	47,66	1,89	3,98

### Linearitás – hígítási teszt

Egyedi humán szérumszám mintákat hígítottunk a készletben levő hígító szérummal 2, 4, 8 és 16-szorosra. A hígítási faktorokat mérlegesen pontosítottuk. A hígított mintákat a készlet protokoll szerint immunoassay-ben megmértük.

Az átlag visszanyerés 97,6 - 108 % .

### Ismert mennyiség visszanyerése (Recovery)

Egyedi humán szérumszám mintákba (5 minta) ismert mennyiségű hCEA-t mértünk be (3 különböző koncentráció). Vizsgáltuk az alap és megemelt koncentráció szinteket, összehasonlítottuk a várt és mért eredményeket. Az átlag visszanyerés (recovery):  $99,4 \pm 5,2\%$ , tartomány: 90% - 108%.

### Nagy-dózisú Hook effektus

Az effektus 15000 ng/ml alatt nem jelentkezik.

### Várható referens tartomány

Egészséges felnőttél a normál CEA koncentráció általában: **< 3,0 ng/ml**.

Dohányosoknál: **< 5,0 ng/ml**.

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

### Egyéb tudnivalók

Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó CEA készletének komponenseivel.

### 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 készletben lévő **humán szérumot** tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérum HIV-Ab, HBsAg, 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 nyertek. Mindezek ellenére az állati eredetű komponenseket tartalmazó reageneket potenciálisan fertőzőként kell kezelni!

A **szarvasmarhából** származó komponensek olyan országokból származnak, amelyekben szivacsos szarvasmarha agyvelőgyulladásos eseteket nem regisztráltak. Mindezek ellenére az állati eredetű komponenseket tartalmazó reageneket potenciálisan fertőzőként kell kezelni!

### Mérgező anyagok

A készlet komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma 74 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 reageneket nagy mennyiségű vízzel öblítve juttassuk a csatornahálózatba.

	Lejáratási idő	<b>CONTROL</b>	Kontroll
	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>	Mosó puffer
	In vitro diagnosztikai eszköz	<b>DIL</b>	Hígító szérum
	Gyártó		2-8°C-on tárolandó
<b>REF</b>	Katalógus szám		Radioaktív anyag



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

Technical e-mail: [immuno@izotop.hu](mailto:immuno@izotop.hu)

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

**IZOTOP**

INSTITUTE OF ISOTOPES Ltd.

1535 Budapest. Pf.: 851.

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

Felülvizsgálva: 2021. Október