



CA 125-Irma

KIP0301

Read entire protocol before use.

CA 125-IRMA

I. INTENDED USE

Immunoradiometric assay kit for the in vitro quantitative determination of the cancer associated antigen CA 125 in serum.

II. GENERAL INFORMATION

- A. Proprietary name :** DIAsource CA 125-IRMA Kit
- B. Catalog number :** KIP0301 : 96 tests
- C. Manufactured by :** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

For technical assistance or ordering information contact :
Tel : +32 (0)67 88.99.99 Fax : +32 (0)67 88.99.96

III. CLINICAL BACKGROUND

A. Biological activities

CA 125 is a high molecular weight mucin type glycoprotein, originally defined by the Oc 125 monoclonal antibody (Mab) established by Bast et al. Different epitopes, co-expressed with the Oc 125 epitope on the CA 125 antigen, have been used for the development of heterologous assays for determination of the CA 125 antigen.

B. Clinical applications

Approximately 90% of ovarian cancers are celomic epithelial carcinomas and contain a celomic epithelium-related glycoprotein designated CA 125. CA 125 can be localized in most serous, endometrioid, and clear cell ovarian carcinomas; mucinous tumors express this antigen less frequently. CA 125 is also found in the epithelium of the fallopian tubes, endometrium, and uterine cervix.

Elevated CA 125 levels can result from abdominal diseases other than ovarian cancer. Although CA 125 is most consistently elevated in patients with epithelial ovarian cancer, it can be expressed in a number of gynaecologic (eg, endometrium, fallopian tube) and non-gynaecologic (eg, pancreas, breast, colon, lung) cancers. CA 125 levels are frequently elevated with tumor spread beyond the uterus.

IV. PRINCIPLES OF THE METHOD

The DIASource CA 125-IRMA is a two-step immunoradiometric assay based on coated-tube separation. Mab1, the capture antibody, is attached to the lower and inner surface of the plastic tube. Add calibrators or samples to the tubes. After incubation, washing removes the occasional excess of antigen. Addition of Mab2, the signal antibody labelled with ¹²⁵I, will complete the system and trigger the immunological reaction. After washing, the remaining radioactivity bound to the tube reflects the antigen concentration. .

V. REAGENTS PROVIDED

Reagents	96 Test Kit	Colour Code	Reconstitution			
 Tubes coated with anti CA 125(monoclonal antibody) .	2 x 48	orange	Ready for use			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> Anti-CA 125- ¹²⁵ I (monoclonal antibody) in phosphate buffer with bovine serum albumin, azide (<0.1%), bovine serum and inert red dye.	Ab	¹²⁵ I	1 vial 10,5 ml 760 kBq	red	Ready for use	
Ab	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Calibrators 0 in bovine serum with thymol .	CAL	0	1 vial lyophilised	yellow	Add 3.0 ml distilled water	
CAL	0					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibrators 1-5 in bovine serum with thymol. See exact value on vial labels.	CAL	N	5 vials lyophilised	yellow	Add 1.0 ml distilled water	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>INC</td><td>BUF</td></tr></table> Incubation buffer: Tris Maleate buffer with bovine serum albumin, bovine serum and azide.	INC	BUF	2 vials 3 ml	black	Ready for use	
INC	BUF					
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Wash solution (TRIS-HCl).	WASH	SOLN	CONC	2 vials 10 ml	brown	Dilute 70 x with distilled water (use a magnetic stirrer).
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controls - N = 1 or 2 in human serum and thymol.	CONTROL	N	2 vials lyophilised	silver	Add 1.0 ml distilled water	
CONTROL	N					

Note: use the zero calibrator for sera dilutions.

VI. SUPPLIES NOT PROVIDED

The following material is required but not provided in the kit:

- 1. Distilled water
- 2. Pipettes for delivery of: 50 µl, 100 µl, 1 ml and 3 ml (the use of accurate pipettes with disposable plastic tips is recommended)
- 3. Pipette for delivery of 1 to 5 ml of distilled water
- 4. Vortex mixer
- 5. Magnetic stirrer
- 6. Tube shaker (400rpm)
- 7. 5 ml automatic syringe (Cornwall type) for washing
- 8. Aspiration system (optional)
- 9. Any gamma counter capable of measuring ¹²⁵I may be used (minimal yield 70%).

VII. REAGENT PREPARATION

- A. **Calibrators:** Reconstitute the calibrator 0 with 3 ml distilled water and the calibrators 1-5 with 1.0 ml.
- B. **Controls:** Reconstitute the controls with 1.0 ml distilled water.
- C. **Working Wash solution:** Prepare an adequate volume of Working Wash solution by adding 69 volumes of distilled water to 1 volume of Wash Solution (70x). Use a magnetic stirrer to homogenize. Discard unused Working Wash solution at the end of the day.

VIII. STORAGE AND EXPIRATION DATING OF REAGENTS

- Before opening or reconstitution, all kits components are stable until the expiry date, indicated on the label, if kept at 2 to 8°C.
- The calibrators and controls are very unstable, use them immediately after reconstitution, freeze immediately in aliquots and keep them at -20°C for maximum 3 months. Avoid subsequent freeze-thaw cycles.
- Freshly prepared Working Wash solution should be used on the same day.
- After its first use, tracer is stable until expiry date, if kept in the original well-closed vial at 2 to 8°C.
- Alterations in physical appearance of kit reagents may indicate instability or deterioration.

IX. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- Serum samples must be kept at 2-8°C.
- If the test is not run within 24 hrs, storage at -20°C is recommended.
- Avoid subsequent freeze-thaw cycles.

X. PROCEDURE

- A. **Handling notes**
Do not use the kit or components beyond expiry date.
Do not mix materials from different kit lots.
Bring all the reagents to room temperature prior to use.
Thoroughly mix all reagents and samples by gentle agitation or swirling.
Use a clean disposable pipette tip for addition of each different reagent and sample in order to avoid cross-contamination. High precision pipettes or automated pipetting equipment will improve the precision.
Respect the incubation times.
Prepare a calibration curve for each run, do not use data from previous runs.
- B. **Procedure.**
 1. Label coated tubes in duplicate for each calibrator, sample and control. For the determination of total counts, label 2 normal tubes.
 2. Briefly vortex calibrators, samples and controls and dispense 100 µl of each into the respective tubes.
 3. Dispense 50 µl Incubation buffer in each tube except those for total counts.
 4. Incubate for 120 minutes at room temperature on a tube shaker (400 rpm).
 5. Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts). Be sure that the plastic tip of the aspirator reaches the bottom of the coated tube in order to remove all the liquid.
 6. Wash tubes with 2 ml Working Wash solution (except total counts) and aspirate (or decant). Avoid foaming during the addition of the Working Wash solution.
 7. Wash tubes again with 2 ml Wash solution (except total counts) and aspirate (or decant).
 8. Let the tubes stand upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
 9. Dispense 100 µl of ¹²⁵Iodine labelled anti CA 125 into each tube, including the uncoated tubes for total counts.
 10. Incubate for 60 minutes at room temperature on a tube shaker(400 rpm).
 11. Aspirate (or decant) the content of each tube (except total counts). Be sure that the plastic tip of the aspirator reaches the bottom of the coated tube in order to remove all the liquid.
 12. Wash tubes with 2 ml Working Wash solution (except total counts) and aspirate (or decant). Avoid foaming during the addition of the Working Wash solution.
 13. Wash tubes again with 2 ml Wash solution (except total counts) and aspirate (or decant).
 14. Let the tubes stand upright for two minutes and aspirate the remaining drop of liquid.
 15. Count tubes in a gamma counter for 60 seconds.

XI. CALCULATION OF RESULTS

1. Calculate the mean of duplicate determinations.
2. On semi logarithmic or linear graph paper plot the c.p.m. (ordinate) for each calibrator against the corresponding concentration of CA 125 (abscissa) and draw a calibration curve through the calibrator points, reject the obvious outliers.
3. Read the concentration for each control and sample by interpolation on the calibration curve.
4. Computer assisted data reduction will simplify these calculations. If automatic result processing is to be used, a 4-parameter logistic function curve fitting is recommended

XII. TYPICAL DATA

The following data are for illustration only and should never be used instead of the real time calibration curve.

CA 125-IRMA		cpm	B/T (%)
Total count		296905	100
Calibrator	0.0 U/ml	252	0.08
	4.8 U/ml	1081	0.36
	15.6 U/ml	2547	0.86
	60.0 U/ml	10515	3.54
	214.5 U/ml	38004	12.80
	786.0 U/ml	123494	41.59

Since no international reference material is available for CA 125 antigen, DIAsource CA 125-IRMA calibrator values are assigned against a set of in-house reference standards.

XIII. PERFORMANCE AND LIMITATIONS

A. Detection limit

Twelve zero calibrators were assayed along with a set of the other calibrators. The detection limit, defined as the apparent concentration of the average count at zero binding plus two standard deviations, was 0.7 U/ml.

B. Precision

INTRA-ASSAY PRECISION

INTER-ASSAY PRECISION

Serum	N	<X> ± SD (U/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (U/ml)	CV (%)
A	20	31.5 ± 1.2	3.9	A	20	38.0 ± 2.0	5.3
B	20	120.8 ± 2.8	2.3	B	20	114.5 ± 5.7	5.0

SD: Standard Deviation; CV: Coefficient of variation

C. Accuracy

DILUTION TEST

Sample	Dilution	Theoretical Concent. (U/ml)	Measured Concent. (U/ml)
A	1/1	-	618.8
	1/2	309.4	310.7
	1/4	154.7	161.4
	1/8	77.4	80.9
	1/16	38.7	43.2
	1/32	19.3	21.6
	1/64	9.7	10.3

Samples were diluted with calibrator 0.

RECOVERY TEST

Added CA 125 (U/ml)	Recovered CA 125 (U/ml)	Recovery (%)
31.1	35.5	114 %
65.8	67.7	103 %
124.3	135.7	109 %
257.9	268.9	104 %
531.8	552.4	104 %

D. Time delay between last calibrator and sample dispensing

As shown hereafter, assay results remain accurate even when a sample is dispensed 30 minutes after the calibrator has been added to the coated tubes.

TIME DELAY				
	0'	10'	20'	30'
S 1 (U/ml)	35.9	37.2	39.3	38.5
S 2 (U/ml)	104.5	113.5	117.7	116.6

E. Hook-effect

Samples containing 340.000 U/ml CA 125 give a result higher than the last calibration point.

F. Specificity

The DIAsource CA 125 IRMA is based on two mouse monoclonal antibodies,OvK95 and Ov185, directed against two independent epitopes of the protein core of the CA 125 antigen.

XIV. LIMITATIONS

- Specimens from patients who have received preparations of mouse monoclonal antibodies for diagnosis or therapy may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). Such specimens may show either falsely elevated or depressed values when tested with assay kits which employ mouse monoclonal antibodies.
- Heterophilic antibodies in human serum can react with reagent immunoglobulins, interfering with in vitro immunoassays. Patients routinely exposed to animals or animal serum products can be prone to this interference and anomalous values may be observed in case of the presence of heterophelic antibodies. Carefully evaluate the results of patients suspected of having these antibodies. If results are not consistent with other clinical observations, additional information should be required before diagnosis.

XV. INTERNAL QUALITY CONTROL

- If the results obtained for Control 1 and/or Control 2 are not within the range specified on the vial label, the results cannot be used unless a satisfactory explanation for the discrepancy has been given.
- If desirable, each laboratory can make its own pools of control samples, which should be kept frozen in aliquots.
- Acceptance criteria for the difference between the duplicate results of the samples should rely on Good Laboratory Practises.

XVI. REFERENCE INTERVALS

Among 154 apparently healthy individuals, 98% of the results were below 35.0 U/ml.

For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history and other findings.

XVII. PRECAUTIONS AND WARNINGS

Safety

For *in vitro* diagnostic use only.
This kit contains ¹²⁵I (half-life: 60 days), emitting ionizing X (28 keV) and γ (35.5 keV) radiations. This radioactive product can be transferred to and used only by authorized persons; purchase, storage, use and exchange of radioactive products are subject to the legislation of the end user's country. In no case the product must be administered to humans or animals.
All radioactive handling should be executed in a designated area, away from regular passage. A logbook for receipt and storage of radioactive materials must be kept in the lab. Laboratory equipment and glassware, which could be contaminated with radioactive substances, should be segregated to prevent cross contamination of different radioisotopes.
Any radioactive spills must be cleaned immediately in accordance with the radiation safety procedures. The radioactive waste must be disposed of following the local regulations and guidelines of the authorities holding jurisdiction over the laboratory. Adherence to the basic rules of radiation safety provides adequate protection.

The human blood components included in this kit have been tested by European approved and/or FDA approved methods and found negative for HbsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 and 2. No known method can offer complete assurance that human blood derivatives will not transmit hepatitis, AIDS or other infections. Therefore, handling of reagents, serum or plasma specimens should be in All animal products and derivatives have been collected from healthy animals. Bovine components originate from countries where bovine spongiform encephalopathy has not been reported. Nevertheless, components containing animal substances should be treated as potentially infectious.
Avoid any skin contact with reagents (sodium azide as preservative). Azide in this kit may react with lead and copper in the plumbing and in this way form highly explosive metal azides. During the washing step, flush the drain with a large amount of water to prevent azide build-up.
Do not smoke, drink, eat or apply cosmetics in the working area. Do not pipette by mouth. Use protective clothing and disposable gloves.

XVIII. BIBLIOGRAPHY

1. BAST R., FEENEY M., LAZARUS H., NADLER L., COLVIN R., KNAPP R.
Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma.
J Clin Invest 1981;68:1331-1337.

2. O'BRIEN T., RAYMOND L., BANNON G., FORD D., HARDARDOTTIR H., MILLER F., QUIRK J..
New monoclonal antibodies identify the glycoprotein carrying the CA 125 epitope.
Am J Obstet Gynecol 1991;165:1857-1864.

3. BAST RC Jr., XU FJ., YU YH., BARNHILL S., ZHANG Z., MILSS GB.
CA 125 : The past and the future.
Int J Biol Markers 1998;13:179-187.

4. BONFRER JMG., DUFFY MJ., RADTKE M., SEGURADO O., TORRE GC., VAN DALEN A., et al.
Tumor markers in glycolological cancers : EGTM recommendations.
Anticancer Res 1999;19:2807-2810.

5. NIH CONSENSUS DEVELOPMENTAL PANEL ON OVARIAN CANCER : NIH CONSENSUS CONFERENCE.
Ovarian cancer : screening, treatment and follow-up.
JAMA 1995;273:491-497.

6. PETIGNAT P., JORIS F., OBRIST R.
How CA 125 is used in routine clinical practice.
Eur J Cancer 2000;36:1933-1937.

7. VON SCHLIPPE M., RUSTIN GJ.
Circulating tumor markers in ovarian tumors.
Forum (Genova) 2000;10:383-392.

8. COLAKOVIC S., LUKIC V., MITROVIC L., JELIC S., SUSNJAR S.,MARINKOVIC J.
Prognostic value of CA 125 kinetics and half-life in advanced ovarian cancer.
Int J Biol Markers 2000;15:147-152.

XIX. SUMMARY OF THE PROTOCOL

	TOTAL COUNTS µl	CALIBRATORS µl	SAMPLE(S) CONTROLS µl
Calibrators (0 to 5)	-	100	-
Sample(s), controls	-	-	100
Incubation buffer	-	50	50
Incubation	120 minutes at room temperature with shaking at 400 rpm		
Separation	-	Aspirate (or decant)	
Working Wash		2 ml	
solution		Aspirate (or decant)	
Separation		2 ml	
Working Wash	-	Aspirate (or decant)	
solution		2 ml	
Separation		Aspirate (or decant)	
Tracer		100	100
Incubation	60 minutes at room temperature with shaking at 400 rpm		
Separation	-	Aspirate (or decant)	
Working Wash		2 ml	
solution		Aspirate (or decant)	
Separation		2 ml	
Working Wash	-	Aspirate (or decant)	
solution		2 ml	
Separation		Aspirate (or decant)	
Counting		Count tubes for 60 seconds	

DIAsource Catalogue Nr : KIP0301	P.I. Number : 1700867/en	Revision nr : 101029/1
-------------------------------------	-----------------------------	---------------------------

Revision date : 2010-10-29

Lire entièrement le protocole avant utilisation.

CA 125-IRMA

I. BUT DU DOSAGE

Trousse de dosage radio-immunométrique pour la mesure quantitative *in vitro* de l'antigène CA-125 associé au cancer dans le sérum humain.

II. INFORMATIONS GENERALES

- A. Nom du produit :** DIASource CA 125-IRMA kit
- B. Numéro de catalogue :** KIP0301 : 96 tests
- C. Fabriqué par :** DIASource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8 B-1400 Nivelles Belgium.

Pour une assistance technique ou une information sur une commande :

Tel : +32 (0)67 88.99.99

Fax : +32 (0)67 88.99.96

III. CONTEXTE CLINIQUE

A Activités biologiques

Le CA 125 est une mucine de type glycoprotéique de haut poids moléculaire, définie au départ par l'anticorps monoclonal Oc 125 (AcM) créé par Bast et al. Différents épitopes, co-exprimés avec l'épitope Oc 125 sur l'antigène CA 125, ont été utilisés pour le développement d'analyses hétérogènes destinées à la détermination de l'antigène CA 125.

B. Application clinique

Approximativement 90% des cancers de l'ovaire sont des carcinomes épithéliaux cœlomiques et contiennent une glycoprotéine liée à l'épithélium cœlomique appelée le CA 125. Le CA 125 peut être retrouvé dans la majeure partie des carcinomes ovariens séreux, endométrioïdes et les adénocarcinomes à cellules claires ; les tumeurs mucineuses expriment moins fréquemment cet antigène. Le CA 125 se trouve également dans l'épithélium des trompes de Fallope, l'endomètre et le col de l'utérus.

Des taux élevés de CA 125 peuvent résulter de maladies abdominales autres que le cancer ovarien. Bien que le CA 125 soit plus constamment élevé chez les patients avec un cancer ovarien épithélial, il peut être exprimé dans un certain nombre de cancers gynécologiques (par ex. endomètre, trompe de Fallope) et non gynécologiques (par ex. pancréas, sein, colon, poumon). Les taux de CA 125 sont fréquemment élevés dans les tumeurs s'étendant au-delà de l'utérus.

IV. PRINCIPE DU DOSAGE

La trousse DIAsource CA 125-Irma est une trousse de dosage radio-immunométrique en deux étapes basée sur la séparation en tube recouvert d'anticorps. Les AcM1, les anticorps de capture, sont attachés sur la surface basse et interne du tube en plastique. Ajouter les calibrateurs ou les échantillons aux tubes. Après incubation, laver l'excès occasionnel d'antigène. L'addition de AcM2, l'anticorps signal marqué avec l'125I, complètera le système et déclenchera la réaction immunologique. Suite au lavage, la radioactivité restante liée au tube reflètera la concentration de l'antigène.

V. REACTIFS FOURNIS

Réactifs	Trousse de 96 analyses	Code Couleur	Reconstitution
Tubes recouverts avec l'anti CA 125 (anticorps monoclonal)	2 x 48	Orange	Prêt à l'emploi
Ab 125I TRACEUR: CA 125 marquée à l'125Iodine (grade HPLC) dans un tampon phosphate avec de l'albumine bovine, du sérum bovin, de l'azoture de sodium (<0,1%) et un colorant rouge inactif	1 flacon 10,5 ml 760 kBq	Rouge	Prêt à l'emploi
CAL 0 Calibrateur zéro dans du sérum bovin et du thymol	1 flacon lyophilisé	Jaune	Ajouter 3,0 ml d'eau distillée
CAL N Calibrateur N = 1 à 5 (cf. Valeurs exactes sur chaque flacon) dans du sérum bovin et du thymol	5 flacons lyophilisés	Jaune	Ajouter 1,0 ml d'eau distillée
INC BUF Tampon d'incubation : tampon Tris maléate contenant du sérum bovin, du sérum bovin et de l'azoture (<0,1%)	2 flacons 3 ml	Noir	Prêt à l'emploi
WASH SOLN CONC Solution de Lavage (Tris-HCl)	2 flacons 10 ml	Brun	Diluer 70 x avec de l'eau distillée (utiliser un agitateur magnétique).
CONTROL N Contrôles - N = 1 ou 2 dans du sérum humain et du thymol	2 flacons lyophilisés	Gris	Ajouter 1,0 ml d'eau distillée

Note: Utiliser le calibrateur zéro pour la dilution des échantillons.

VI. MATERIEL NON FOURNI

Le matériel mentionné ci-dessous est requis mais non fourni avec la trousse:

- 1. Eau distillée
- 2. Pipettes pour distribuer: 50 µl, 100 µl, 1 ml et 3 ml (l'utilisation de pipettes précises et de pointes jetables en plastique est recommandée)
- 3. Pipette pour distribuer de 1 à 5 ml d'eau distillée
- 4. Agitateur vortex
- 5. Agitateur magnétique
- 6. Agitateur de tubes (400rpm)
- 7. Seringue automatique de 5 ml (type Cornwall) pour les lavages
- 8. Système d'aspiration (optionnel)
- 9. Tout compteur gamma capable de mesurer l'125I peut être utilisé (rendement minimum 70%).

VII. PREPARATION DES REACTIFS

- A. **Calibrateurs** : Reconstituer le calibrateur zéro avec 3,0 ml d'eau distillée et les calibrateurs 1 à 5 avec 1,0 ml.
- B. **Contrôles** : Reconstituer les contrôles avec 1,0 ml d'eau distillée.
- C. **Solution de Lavage** : Préparer un volume adéquat de Solution de Lavage en ajoutant 69 volumes d'eau distillée à 1 volume de Solution de Lavage (70x). Utiliser un agitateur magnétique pour homogénéiser. Eliminer la Solution de Lavage non utilisée à la fin de la journée.

VIII. STOCKAGE ET DATE D'EXPIRATION DES REACTIFS

- Avant l'ouverture ou la reconstitution, tous les composants de la trousse sont stables jusqu'à la date d'expiration, indiquée sur l'étiquette, si la trousse est conservée entre 2 et 8°C.
- Les calibrateurs et les contrôles sont très instables. Utiliser les immédiatement après leur reconstitution. Congeler immédiatement en aliquotes et conserver les à -20°C pendant trois mois au maximum. Eviter des cycles de congélation et décongélation successifs.
- La Solution de Lavage préparée doit être utilisée le jour même.
- Après la première utilisation, le traceur est stable jusqu'à la date d'expiration, si celui-ci est conservé entre 2 et 8°C dans le flacon d'origine correctement fermé.
- Des altérations dans l'apparence physique des réactifs de la trousse peuvent indiquer une instabilité ou une détérioration.

IX. PREPARATION ET STABILITE DE L'ECHANTILLON

- Les échantillons de sérum doivent être gardés entre 2 et 8°C.
- Si le test n'est pas réalisé dans les 24 heures, un stockage à -20°C est recommandé.
- Eviter des cycles de congélation et décongélation successifs.

X. MODE OPERATOIRE

A. Notes de manipulation

Ne pas utiliser la trousse ou ses composants après avoir dépassé la date d'expiration. Ne pas mélanger du matériel provenant de trousses de lots différents. Mettre tous les réactifs à température ambiante avant utilisation. Mélanger tous les réactifs et les échantillons sous agitation douce. Pour éviter toute contamination croisée, utiliser une nouvelle pointe de pipette pour l'addition de chaque réactif et échantillon. Des pipettes de haute précision ou un équipement de pipetage automatique permettent d'augmenter la précision. Respecter les temps d'incubation. Préparer une courbe de calibration pour chaque nouvelle série d'expériences, ne pas utiliser les données d'expériences précédentes.

B. Mode opératoire

1. Identifier les tubes recouverts fournis dans la trousse, en double pour chaque calibrateur, échantillon, contrôle. Pour la détermination de l'activité totale, identifier 2 tubes non recouverts d'anticorps.
2. Agiter au vortex brièvement les calibrateurs, les échantillons et les contrôles. Puis distribuer 100 µl de chacun d'eux dans leurs tubes respectifs.
3. Ajouter 50 µL de tampon d'incubation dans chaque tube à l'exception des ceux servant au comptage total.
4. Incuber pendant 120 minutes à température ambiante sous agitation continue (400 rpm).
5. Aspirer (ou décanner) le contenu de chaque tube (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale). Assurez-vous que la pointe utilisée pour aspirer le liquide des tubes atteint le fond de chacun d'eux pour éliminer toute trace de liquide.
6. Laver les tubes avec 2 ml de Solution de Lavage (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale) et aspirer. Eviter la formation de mousse pendant l'addition de la Solution de Lavage.
7. Aspirer (ou décanner) le contenu de chaque tube (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale).
8. Laver les tubes à nouveau avec 2 ml de Solution de Lavage (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale) et aspirer (ou décanner).
9. Après le dernier lavage, laisser les tubes droits pendant 2 minutes et aspirer (ou décanner) le reste de liquide.
10. Distribuer 100 µl de traceur dans chaque tube, y compris les tubes sans anticorps pour la détermination de l'activité totale.
11. Incuber pendant 60 minutes à température ambiante sous agitation continue (400 rpm).
12. Aspirer (ou décanner) le contenu de chaque tube (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale). Assurez-vous que la pointe utilisée pour aspirer le liquide des tubes atteint le fond de chacun d'eux pour éliminer toute trace de liquide.
13. Laver les tubes avec 2 ml de Solution de Lavage (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale) et aspirer. Eviter la formation de mousse pendant l'addition de la Solution de Lavage.
14. Aspirer (ou décanner) le contenu de chaque tube (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale).
15. Laver les tubes à nouveau avec 2 ml de Solution de Lavage (à l'exception des tubes utilisés pour la détermination de l'activité totale) et aspirer (ou décanner).
16. Après le dernier lavage, laisser les tubes droits pendant 2 minutes et aspirer (ou décanner) le reste de liquide.
17. Placer les tubes dans un compteur gamma pendant 60 secondes pour quantifier la radioactivité.

XI. CALCUL DES RESULTATS

- 1. Calculer la moyenne de chaque détermination réalisée en double.
- 2. Dessiner sur un graphique linéaire ou semi-logarithmique les cpm (ordonnées) pour chaque calibrateur contre la concentration correspondante en CA 125 (abscisses) et dessiner une courbe de calibration à l'aide des points de calibration, écarter les valeurs aberrantes.
- 3. Lire la concentration pour chaque contrôle et échantillon par interpolation sur la courbe de calibration.
- 4. L'analyse informatique des données simplifiera les calculs. Si un système d'analyse de traitement informatique des données est utilisé, il est recommandé d'utiliser la fonction « 4 paramètres » du lissage de courbes.

XII. DONNEES TYPES

Les données représentées ci-dessous sont fournies pour information et ne peuvent jamais être utilisées à la place d'une courbe de calibration.

CA 125-IRMA		cpm	B/T (%)
Activité totale		296905	100
Calibrateur	0,0 U/ml	252	0,08
	4,8 U/ml	1081	0,36
	15,6 U/ml	2547	0,86
	60,0 U/ml	10515	3,54
	214,5 U/ml	38004	12,80
	786,0 U/ml	123494	41,59

Comme on ne dispose pas de matériel international de référence pour l'antigène CA 125, les valeurs du calibrateur DIAsource CA 125-IRMA sont attribuées à un jeu de standards de référence internes.

XIII. PERFORMANCE ET LIMITES DU DOSAGE

A. Sensibilité

Vingt calibrateurs zéro ont été testés en parallèle avec un assortiment d'autres calibrateurs. La limite de détection, définie comme la concentration apparente située 2 déviations standards au-dessus de la moyenne déterminée à la fixation zéro, était de 0,7 U/ml.

B. Précision

INTRA-ESSAI				INTER-ESSAI			
Sérum	N	<X> ± SD (U/ml)	CV (%)	Sérum	N	<X> ± SD (U/ml)	CV (%)
A B	20	31,5 ± 1,2	3,9	A B	20	38,0 ± 2,0	5,3
	20	120,8 ± 2,8	2,3		20	114,5 ± 5,7	5,0

SD : Déviation Standard; CV: Coefficient de variation

C. Exactitude

TEST DE RECUPERATION		
CA 125 ajoutée (U/ml)	CA 125 récupérée (U/ml)	Récupération (%)
31,1	35,5	114 %
65,8	67,7	103 %
124,2	135,7	109 %
257,9	268,9	104 %
531,8	552,4	104 %

TEST DE DILUTION			
Echantillon	Dilution	Concent. théorique (U/ml)	Concent. Mesurée (U/ml)
A	1/1	-	618,8
	1/2	309,4	310,7
	1/4	154,7	161,4
	1/8	77,4	80,9
	1/16	38,7	43,2
	1/32	19,3	21,6
	1/64	9,7	10,3

Les échantillons ont été dilués avec le calibrateur zéro.

D. Délai entre la distribution du dernier calibrateur et celle de l'échantillon

Comme montré ci-dessous, les résultats d'un essai restent précis même quand un échantillon est distribué 30 minutes après que le calibrateur a été ajouté aux tubes avec l'anticorps.

DELAI				
	0'	10'	20'	30'
S 1 (U/ml)	35,9	37,2	39,3	38,5
S 2 (U/ml)	104,5	113,5	117,7	116,6

E. Effet crochet

Les échantillons contenant 340.000 U/ml de CA 125 donnent un résultat supérieur au dernier point de calibration.

F. Spécificité

Le DIAsource CA 125 IRMA est basé sur deux anticorps monoclonaux de souris, OvK95 et Ov185, dirigés contre deux épitopes indépendants du noyau protéinique de l'antigène CA 125.

XIV. LIMITATIONS

- Les échantillons de patients ayant reçu des préparations d'anticorps monoclonaux de souris pour un diagnostic ou comme traitement peuvent contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA). De tels échantillons peuvent montrer des valeurs soit faussement élevées soit faussement basses lorsqu'ils sont analysés avec des trousse d'analyses utilisant des anticorps monoclonaux de souris.
- Des anticorps hétérophiles dans le sérum humain peuvent réagir avec le réactif immunoglobulines, interférant ainsi avec les méthodes d'analyse immunologiques in vitro.
Les patients couramment en contact avec des animaux ou des produits de sérum animal peuvent être sujets à ces interférences. Des valeurs anormales peuvent être observées en cas de présence d'anticorps hétérophiles. Évaluer soigneusement les résultats des patients suspectés d'avoir ces anticorps.
Si les résultats ne sont pas cohérents avec les autres observations cliniques, des informations supplémentaires doivent être demandées avant de poser le diagnostic.

XV. CONTROLE QUALITE INTERNE

- Si les résultats obtenus pour le(s) contrôle(s) 1 et/ou 2 ne sont pas dans l'intervalle spécifié sur l'étiquette du flacon, les résultats ne peuvent pas être utilisés à moins que l'on ait donné une explication satisfaisante de la non-conformité.
- Chaque laboratoire est libre de faire ses propres stocks d'échantillons contrôles, lesquels doivent être congelés en aliquotes. Ne pas congeler – décongeler plus de deux fois.
- Les critères d'acceptation de la différence entre les résultats des échantillons analysés en double doivent être basés sur les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

XVI. VALEURS ATTENDUES

Parmi 154 individus apparents en bonne santé, 98% des résultats étaient en dessous de 35,0 U/ml.

Pour être utilisés à des fins diagnostiques, les résultats obtenus avec cet essai doivent toujours être utilisés en combinaison avec l'examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres constatations.

XVII. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

Sécurité

Pour utilisation en diagnostic *in vitro* uniquement.
Cette trousse contient de l'¹²⁵I (demi-vie: 60 jours), une matière radioactive émettant des rayonnements ionisants X (28 keV) et γ (35.5 keV).
Ce produit radioactif peut uniquement être reçu, acheté, possédé ou utilisé par des personnes autorisées; l'achat, le stockage, l'utilisation et l'échange de produits radioactifs sont soumis à la législation du pays de l'utilisateur final. Ce produit ne peut en aucun cas être administré à l'homme ou aux animaux.
Toutes les manipulations radioactives doivent être exécutées dans un secteur désigné, éloigné de tout passage. Un journal de réception et de stockage des matières radioactives doit être tenu à jour dans le laboratoire. L'équipement de laboratoire et la verrerie, qui pourrait être contaminée avec des substances

radioactives, doivent être isolés afin d’éviter la contamination croisée de plusieurs isotopes.

Toute contamination ou perte de substance radioactive doit être réglée conformément aux procédures de radio sécurité. Les déchets radioactifs doivent être placés de manière à respecter les réglementations en vigueur. L'adhésion aux règles de base de sécurité concernant les radiations procure une protection adéquate.

Les composants de sang humain inclus dans ce kit ont été évalués par des méthodes approuvées par l’Europe et/ou la FDA et trouvés négatifs pour HBsAg, l’anti-HCV, l’anti-HIV-1 et 2. Aucune méthode connue ne peut offrir l'assurance complète que des dérivés de sang humain ne transmettront pas d’hépatite, le sida ou toute autre infection. Donc, le traitement des réactifs, du sérum ou des échantillons de plasma devra être conforme aux procédures locales de sécurité. Tous les produits animaux et leurs dérivés ont été collectés d'animaux sains. Les composants bovins proviennent de pays où l’ESB n'a pas été détectée. Néanmoins, les composants contenant des substances animales devront être traités comme potentiellement infectieux. L’azoture de sodium est nocif s’il est inhalé, avalé ou en contact avec la peau (l’azoture de sodium est utilisé comme agent conservateur). L’azoture dans cette trousse pouvant réagir avec le plomb et le cuivre dans les canalisations et donner des composés explosifs, il est nécessaire de nettoyer abondamment à l’eau le matériel utilisé. Ne pas fumer, ni boire, ni manger ni appliquer de produits cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des vêtements protecteurs et des gants à usage unique.

XVIII. BIBLIOGRAPHIE

1. BAST R., FEENEY M., LAZARUS H., NADLER L., COLVIN R., KNAPP R.
Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma.
J Clin Invest 1981;68:1331-1337.

2. O'BRIEN T., RAYMOND L., BANNON G., FORD D., HARDARDOTTIR H., MILLER F., QUIRK J..
New monoclonal antibodies identify the glycoprotein carrying the CA 125 epitope.
Am J Obstet Gynecol 1991;165:1857-1864.

3. BAST RC Jr., XU FJ., YU YH., BARNHILL S., ZHANG Z., MILSS GB.
CA 125 : The past and the future.
Int J Biol Markers 1998;13:179-187.

4. BONFRER JMG., DUFFY MJ., RADTKE M., SEGURADO O., TORRE GC., VAN DALEN A., et al.
Tumor markers in glycolological cancers : EGTM recommendations.
Anticancer Res 1999;19:2807-2810.

5. NIH CONSENSUS DEVELOPMENTAL PANEL ON OVARIAN CANCER : NIH CONSENSUS CONFERENCE.
Ovarian cancer : screening, treatment and follow-up.
JAMA 1995;273:491-497.

6. PETIGNAT P., JORIS F., OBRIST R.
How CA 125 is used in routine clinical pratice.
Eur J Cancer 2000;36:1933-1937.

7. VON SCHLIPPE M., RUSTIN GJ.
Circulating tumor markers in ovarian tumors.
Forum (Genova) 2000;10:383-392.

8. COLAKOVIC S., LUKIC V., MITROVIC L., JELIC S., SUSNJAR S.,MARINKOVIC J.
Prognostic value of CA 125 kinetics and half-life in advanced ovarian cancer.
Int J Biol Markers 2000;15:147-152.

XIX. RESUME DU PROTOCOLE

	ACTIVITE TOTALE (µl)	CALIBRA- TEURS (µl)	ECHANTILLONS CONTRÔLES (µl)
Calibrateurs (0 à 5) Echantillons, Contrôles Tampon d'incubation	- - -	100 - 50	- 100 50
Incubation	120 minutes à température ambiante sous agitation continue (400 rpm).		
Séparation Solution de Lavage Séparation Solution de Lavage Séparation	- - - - -	Aspiration 2,0 ml aspiration 2,0 ml aspiration	
Traceur	100	100	100
Incubation	60 minutes à température ambiante sous agitation continue (400 rpm).		
Séparation Solution de Lavage Séparation Solution de Lavage Séparation	- - - - -	Aspiration 2,0 ml aspiration 2,0 ml aspiration	
Comptage	Temps de comptage des tubes: 60 secondes		

Numéro de catalogue DIASource : KIP0301	Numéro de P.I. : 1700867/fr	Numéro de révision : 101029/1
--	--------------------------------	----------------------------------

Date de révision : 2010-10-29

Vor Gebrauch des Kits lesen Sie bitte diese Packungsbeilage.

CA 125-IRMA

I. VERWENDUNGSZWECK

Ein Radio-Immunoassay für die quantitative *in vitro* Bestimmung des tumorassoziierten Antigens CA 125 in Serum.

II. ALLGEMEINE INFORMATION

- A. Handelsbezeichnung :** DIAsource CA 125-IRMA Kit
- B. Katalognummer :** KIP0301 : 96 Tests
- C. Hergestellt von:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgien.

Für technische Unterstützung oder Bestellungen wenden Sie sich bitte an:

Tel : +32 (0)67 88.99.99 Fax : +32 (0)67 88.99.96

Für Deutschland : Kostenfreie Rufnummer : 0800 1 00 85 74 - Kostenfreie Faxnummer : 0800 1 00 85 75

E-mail Ordering : ordering@diasource.be

III. KLINISCHER HINTERGRUND

A Biologische Aktivitäten

CA 125 ist ein hochmolekulares Glykoprotein vom Typ Muzin, ursprünglich definiert durch den monoklonalen Antikörper Oc 125 (Mab) und nachgewiesen von Bast et al. Verschiedene Epitope, koexprimiert mit dem Oc 125 Epitop auf dem CA 125 Antigen, wurden für die Entwicklung heterologer Assays zur Bestimmung des CA 125 Antigens benutzt.

B. Klinische Anwendung

Annähernd 90% der Krebserkrankungen der Ovarien sind zölonische, epitheliale Tumore und enthalten ein zölonisches Epithel-verwandtes Glykoprotein, das als CA 125 bezeichnet wird. CA 125 kann bei den meisten serösen, endometrioiden und Klarzellentumoren der Ovarien gefunden werden; muzinöse Tumore produzieren häufig weniger dieses Antigens. CA 125 findet sich ebenso in dem Epithel der Fallopio-Tube, im Endometrium und im cervix uteri.

Erhöhte CA 125 Werte können ebenso aus Erkrankungen des Abdomens resultieren, denn von Karzinomen der Ovarien. Auch wenn CA 125 meist bei Patienten mit epithelialen Ovarialkarzinomen gleichbleibend erhöht ist, kann es auch bei einer Reihe gynäkologischer (z.B. Endometriose, Fallopio-Tube) und nicht-gynäkologischer (z.B. Pankreas, Brust, Colon, Lunge) Tumorarten entstehen. CA 125 Werte sind häufig bei sich über den Uterus ausbreitenden Tumoren erhöht.

IV. GRUNDSÄTZLICHES ZUR DURCHFÜHRUNG

Der DIASource CA 125-IRMA ist ein Zwei-Schritt immunradiometrischer Assay in beschichteten Röhrchen. Mab1, die Fänger-Antikörper, haften an der unteren inneren Oberfläche des Plastikröhrchens. Hinzugabe der Kalibratoren und Proben in die Röhrchen. Nach der Inkubation durch Waschen gelegentlichen Überschuss an Antigenen entfernen. Zugabe von Mab2, des mit ¹²⁵I markierten Signalantikörpers, vervollständigt das System und triggert die immunologische Reaktion. Nach dem Waschen gibt die verbleibende, an den Röhrchen haftende Radioaktivität die Antigenkonzentration wieder.

V. MITGELIEFERTE REAGENZIEN

Reagenzien	96 Test Kit	Farb Code	Rekonstitution			
 Mit anti CA 125-beschichtete Röhrchen (monoklonale Antikörper)	2 x 48	orange	gebrauchsfertig			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRACER: ¹²⁵ Iodmarkierter Anti-CA 125 (monoklonale Antikörper) in Phosphatpuffer mit Rinderserumalbumin, Rinderserum, Azid (<0.1%) und inertem roten Farbstoff	Ab	¹²⁵ I	1 Gefäß 10,5 ml 760 kBq	rot	gebrauchsfertig	
Ab	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Null Kalibrator in Rinderserum und Thymol	CAL	0	1 Gefäß lyophilisiert	gelb	3,0 ml dest. Wasser zugeben	
CAL	0					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Kalibrator - N = 1 to 5 (genaue Werte auf Gefäß-Etiketten) in Rinderserum und Thymol	CAL	N	5 Gefäße lyophilisiert	gelb	1,0 ml dest. Wasser zugeben	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>INC</td><td>BUF</td></tr></table> Inkubationspuffer: Tris-maleate Puffer mit Rinderserumalbumin, Rinderserum und Azid (<0,1%)	INC	BUF	2 Gefäße 3 ml	schwarz	gebrauchsfertig	
INC	BUF					
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Waschlösung (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	2 Gefäße 10 ml	braun	70 x mit dest. Wasser verdünnen (Magnetrührer benutzen).
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Kontrollen - N = 1 or 2 Humanserum und Thymol	CONTROL	N	2 Gefäße lyophilisiert	silber	1,0 ml dest. Wasser zugeben	
CONTROL	N					

Bemerkung: Benutzen Sie den Null-Kalibrator zur Probenverdünnung.

VI. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL

Folgendes Material wird benötigt, aber nicht mit dem Kit mitgeliefert:

- 1. Dest. Wasser
- 2. Pipetten: 50 µl, 100 µl, 1 ml und 3 ml (Verwendung von Präzisionspipetten mit Wegwerf-Plastikspitzen wird empfohlen)
- 3. Pipette zur Abgabe von 1 bis 5 ml dest. Wasser
- 4. 5 ml automatische Spritze (Cornwall Typ) zum Waschen
- 5. Absaugsystem (optional)
- 6. Vortex Mixer
- 7. Schüttler für Röhrchen (400rpm)
- 8. Magnetrührer
- 9. Jegl. Gamma-Counter, der 125I messen kann, kann verwendet werden. (minimal Yield 70%)

VII. REAGENT PREPARATION

- A. **Kalibratoren:** Rekonstituieren Sie den Nullstandard mit 3,0 ml dest. Wasser und die Kalibratoren 1-5 mit 1,0 ml dest.Wasser.
- B. **Kontrollen:** Rekonstituieren Sie die Kontrollen mit 1,0 ml dest. Wasser.
- C. **Waschlösung:** Bereiten Sie ein angemessenes Volumen Waschlösung aus einem Anteil Waschlösung (70x) mit 69 Anteilen dest. Wasser zu.

Verwenden Sie einen Magnetrührer zum gleichmäßigen Durchmischen. Verwerfen Sie die nicht benutzte Waschlösung am Ende des Tages.

VIII. AUFBEWAHRUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Vor dem Öffnen oder Rekonstitution sind die Reagenzien des Kits bis zum Ablaufdatum (Angaben auf Etikett) bei Lagerung bei 2°C bis 8°C stabil.
- Die Kalibratoren und Proben sind sehr instabil. Benutzung sofort nach der Rekonstitution oder sofort in Aliquots bei -20°C für bis zu 3 Monate einfrieren. Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
- Frisch zubereitete Waschlösung sollte am selben Tag benutzt werden.
- Nach der ersten Benutzung ist der Tracer bei Aufbewahrung im Originalgefäß und bei 2° bis 8° C bis zum Ablaufdatum stabil.
- Veränderungen im Aussehen der Kitkomponenten können ein Anzeichen für Instabilität oder Zerfall sein.

IX. PROBENSAMMLUNG UND -VORBEREITUNG

- Serumproben müssen bei 2-8°C aufbewahrt werden.
- Falls der Test nicht innerhalb von 24 Std. durchgeführt wird, ist die Aufbewahrung bei -20°C erforderlich.
- Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.

X. DURCHFÜHRUNG

- A. **Bemerkungen zur Durchführung**
Verwenden Sie den Kit oder dessen Komponenten nicht nach Ablaufdatum. Vermischen Sie Materialien von unterschiedlichen Kit-Chargen nicht. Bringen Sie alle Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur.
Mischen Sie alle Reagenzien und Proben gründlich durch sanftes Schütteln oder Rühren. Verwenden Sie saubere Wegwerf-Pipettenspitzen, um Kreuzkontamination zu vermeiden.
Präzisionspipetten oder ein automatisches Pipettiersystem erhöhen die Präzision. Achten Sie auf die Einhaltung der Inkubationszeiten.
Erstellen Sie für jeden Durchlauf eine Standardkurve, verwenden Sie nicht die Daten von früheren Durchläufen.
- B. **Durchführung**
 - Beschriften Sie je 2 beschichtete Röhrchen für jeden Kalibrator, jede Probe und Kontrolle. Zur Bestimmung der Gesamtaktivität, beschriften Sie 2 normale Röhrchen.
 - Vortexen Sie Kalibratoren, Proben und Kontrollen kurz und geben Sie jeweils 100 µl in ihre Röhrchen.
 - Dispensieren sie 50 µl Inkubationspuffer in jedes Röhrchen, außer dem für die Gesamtaktivität.
 - Inkubieren Sie 120 Minuten bei Raumtemperatur unter ständigem Schütteln (400 rpm).
 - Saugen Sie den Inhalt jedes Röhrchens ab (oder dekantieren Sie) (außer Gesamtaktivität). Vergewissern Sie sich, dass die Plastikspitze des Absaugers den Boden des beschichteten Röhrchens erreicht, um die gesamte Flüssigkeit zu entfernen.
 - Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie). Vermeiden Sie Schaumbildung bei Zugabe der Waschlösung.
 - Saugen Sie den Inhalt jeden Röhrchens (außer Gesamtaktivität) ab.
 - Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie).
 - Lassen Sie nach dem letzten Waschen die Röhrchen 2 Minuten aufrecht stehen und saugen Sie den verbleibenden Flüssigkeitstropfen ab.
 - Geben Sie 100 µl des Tracers in jedes Röhrchen, einschließlich der unbeschichteten Röhrchen für die Gesamtaktivität.
 - Inkubieren Sie 60 Minuten bei Raumtemperatur unter ständigem Schütteln (400 rpm).
 - Saugen Sie den Inhalt jedes Röhrchens ab (oder dekantieren Sie) (außer Gesamtaktivität). Vergewissern Sie sich, dass die Plastikspitze des Absaugers den Boden des beschichteten Röhrchens erreicht, um die gesamte Flüssigkeit zu entfernen.
 - Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie). Vermeiden Sie Schaumbildung bei Zugabe der Waschlösung.
 - Saugen Sie den Inhalt jeden Röhrchens (außer Gesamtaktivität) ab.
 - Waschen Sie die Röhrchen mit 2 ml Waschlösung (außer Gesamtaktivität) und saugen Sie ab (oder dekantieren Sie).
 - Lassen Sie nach dem letzten Waschen die Röhrchen 2 Minuten aufrecht stehen und saugen Sie den verbleibenden Flüssigkeitstropfen ab.
 - Werten Sie die Röhrchen in einem Gamma-Counter 60 Sekunden aus.

XI. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

- 1. Berechnen Sie den Durchschnitt aus den Doppelbestimmungen.
- 2. Tragen Sie auf semilogarithmischem oder linearem Millimeterpapier den c.p.m. (Ordinate) für jeden Standard gegen die entsprechende Konzentration CA 125 (Abszisse) und zeichnen Sie eine Standardkurve durch die Standardpunkte, schließen Sie offensichtliche „Ausreißer“ aus.
- 3. Berechnen Sie die Konzentration für jede Kontrolle und Probe durch Interpolation aus der Standardkurve.
- 4. Computergestützte Methoden können ebenfalls zur Erstellung der Kalibrationskurve verwendet werden. Falls die Ergebnisberechnung mit dem Computer durchgeführt wird, empfehlen wir die Berechnung mit einer “4 Parameter”-Kurvenfunktion.

XII. TYPISCHE WERTE

Die folgenden Daten dienen nur zu Demonstrationszwecken und können nicht als Ersatz für die Echtzeitstandardkurve verwendet werden.

CA 125-IRMA		cpm	B/T (%)
Gesamtaktivität		296905	100
Kalibrator	0,0 U/ml	252	0,08
	4,8 U/ml	1081	0,36
	15,6 U/ml	2547	0,86
	60,0 U/ml	10515	3,54
	214,5 U/ml	38004	12,80
	786,0 U/ml	123494	41,59

Weil kein internationales Referenzmaterial für das CA 125 Antigen erhältlich ist, werden DIAsource CA 125-IRMA Kalibrationswerte gegen ein Set von in-house Referenzstandards bestimmt.

XIII. LEISTUNGSMERKMALE UND GRENZEN DER METHODIK

- A. Nachweisgrenze
Zwanzig Null-Kalibratoren wurden zusammen mit einem Satz anderer Kalibratoren gemessen.
Die Nachweisgrenze, definiert als die scheinbare Konzentration bei zwei Standardabweichungen über dem gemessenen Durchschnittswerts bei Nullbindung, entsprach 0,7 U/ml.

B. Precision

INTRA-ASSAY PRECISION				INTER-ASSAY PRECISION			
Serum	N	<X> ± SD (U/ml)	CV (%)	Serum	N	<X> ± SD (U/ml)	CV (%)
A	20	31,5 ± 1,2	3,9	A	20	38,0 ± 2,0	5,3
B	20	120,8 ± 2,8	2,3	B	20	114,5 ± 5,7	5,0

SD : Standardabweichung; CV: Variationskoeffizient

C. Genauigkeit

VERDÜNNUNGSTEST

Probe	Verdünn.	Theoret. Konzentr. (U/ml)	Gemess. Konzentr. (U/ml)
A	1/1	-	618,8
	1/2	309,4	310,7
	1/4	154,7	161,4
	1/8	77,4	80,9
	1/16	38,7	43,2
	1/32	19,3	21,6
	1/64	9,7	10,3

Die Proben wurden mit Null-Kalibrator verdünnt.

WIEDERFINDUNGSTEST

Zugeg. CA 125 (U/ml)	Wiedergef. CA 125 (U/ml)	Wiedergefunden (%)
31,1	35,5	114 %
65,8	67,7	103 %
124,2	135,7	109 %
257,9	268,9	104 %
531,8	552,4	104 %

D. Zeitverzögerung zwischen letzter Kalibrator- und Probenzugabe

Es wird im folgenden gezeigt, dass die Genauigkeit der Tests selbst dann erhalten bleibt, wenn die Probe 30 Minuten nach Zugabe des Kalibrators in die beschichteten Röhrchen zugefügt wird.

ZEITABSTAND				
	0'	10'	20'	30'
S 1 (U/ml)	35,9	37,2	39,3	38,5
S 2 (U/ml)	104,5	113,5	117,7	116,6

E. Hook-Effekt

Proben, die 340000 U/ml CA 125 enthalten, ergeben ein höheres Resultat als der letzte Kalibrationspunkt.

F. Spezifität

Der DIAsource CA 125 IRMA basiert auf zwei monoklonalen Antikörpern der Maus OvK95 und Ov185, die gegen zwei unabhängige Epitope des Kernproteins des CA 125 Antigens gerichtet sind.

XIV. ANWENDUNGSGRENZEN

- Proben von Patienten, die Zubereitungen von monoklonalen Maus-Antikörpern zur Diagnose oder Therapie erhalten haben, können humane Anti-Maus Antikörper (HAMA) enthalten. Solche Proben können entweder falsch erhöhte oder zu niedrige Werte ergeben, wenn sie mit Testsystemen getestet werden, die monoklonale Maus Antikörper enthalten.
- Heterophile Antikörper im humanen Serum können mit Immunglobulinen der Reagenzien reagieren und so mit in vitro Immunoassays interferieren. Patienten, die routinemäßigen Umgang mit Tieren oder Tierseren haben, können zu dieser Interferenz neigen und so können anormale Werte in Gegenwart von heterophilen Antikörpern beobachtet werden. Ergebnisse von Patienten, bei denen diese Antikörper vermutet werden, müssen sorgfältig evaluiert werden. Wenn die Ergebnisse nicht mit anderen klinischen Beobachtungen übereinstimmen, sollten weitere Informationen vor der Diagnosestellung ermittelt werden.

XV. INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

- Entsprechen die Ist-Werte nicht den auf den Fläschchen angegebenen Soll-Werten, können die Werte, ohne treffende Erklärung der Abweichungen, nicht weiterverarbeitet werden.
- Falls zusätzliche Kontrollen erwünscht sind, kann jedes Labor seinen eigenen Pool herstellen, der in Aliquots eingefroren werden sollte. Erinnern Sie sich, dass zwei Gefrier-Auftau-Zyklen erlaubt sind.
- Akzeptanzkriterien für die Differenz zwischen den Resultaten der Wiederholungstests anhand der Proben müssen auf Guter Laborpraxis beruhen.

XVI. REFERENZ INTERVALLE

Unter 154 anscheinend gesunden Einzelpersonen, 98% der Resultate waren unter 35,0 U/ml.

Für diagnostische Zwecke sollten die durch diesen Assay erzielten Ergebnisse nur in Verbindung mit klinischen Untersuchungen, der Patientengeschichte und anderen Befunden genutzt werden.

XVII. VORSICHTMASSNAHMEN UND WARNUNGEN

Sicherheit

Nur für diagnostische Zwecke.
Dieser Kit enthält ¹²⁵I (Halbwertszeit: 60 Tagen) , das ionisierende X (28 keV) und γ (35,5 keV) Strahlungen emittiert.
Dieses radioaktive Produkt kann nur an autorisierte Personen abgegeben und darf nur von diesen angewendet werden; Erwerb, Lagerung, Verwendung und Austausch radioaktiver Produkte sind Gegenstand der Gesetzgebung des Landes des jeweiligen Endverbrauchers. In keinem Fall darf das Produkt an Menschen oder Tieren angewendet werden.
Der Umgang mit radioaktiven Substanzen sollte fern von Durchgangsverkehr in einem speziell ausgewiesenen Bereich stattfinden. Ein Logbuch für Protokolle und Aufbewahrung muss im Labor sein. Die Laborausrüstung und die Glasbehälter, die mit radioaktiven Substanzen kontaminiert werden können, müssen ausgesondert werden, um Kreuzkontaminationen mit unterschiedlichen Radioisotopen zu verhindern. Verschüttete radioaktive Substanzen müssen sofort den Sicherheitsbestimmungen entsprechend entfernt werden. Radioaktive Abfälle müssen entsprechend den lokalen Bestimmungen und Richtlinien der für das

Labor zuständigen Behörden gelagert werden. Das Einhalten der Sicherheitsbestimmungen für den Umgang mit radioaktiven Substanzen gewährleistet ausreichenden Schutz.

Die menschlichen Blutkomponenten in diesem Kit wurden mit europäischen und in USA erprobten FDA-Methoden getestet, sie waren negativ für HBsAG, anti-HCV und anti-HIV 1 und 2. Keine bekannte Methode kann jedoch vollkommene Sicherheit liefern, dass menschliche Blutbestandteile nicht Hepatitis, AIDS oder andere Infektionen übertragen. Deshalb sollte der Umgang mit Reagenzien, Serum oder Plasmaproben in Übereinstimmung mit den Sicherheitsbestimmungen erfolgen.

Alle tierischen Produkte und deren Derivate wurden von gesunden Tieren gesammelt. Komponenten von Rindern stammen aus Ländern in denen BSE nicht nachgewiesen wurde.

Trotzdem sollten Komponenten, die tierische Substanzen enthalten, als potenziell infektiös betrachtet werden.

Vermeiden Sie Hautkontakt mit den Reagenzien (Natriumazid als Konservierungsmittel). Das Azid in diesem Kit kann mit Blei oder Kupfer in den Abflussrohren reagieren und so hochexplosive Metallazide bilden. Spülen Sie während der Waschschrte den Abfluss gründlich mit viel Wasser, um die Metallazidbildung zu verhindern.

Bitte rauchen, trinken, essen Sie nicht in Ihrem Arbeitsbereich, und verwenden Sie keine Kosmetika. Pipettieren Sie nicht mit dem Mund. Verwenden Sie Schutzkleidung und Wegwerfhandschuhe.

XVIII. LITERATUR

1. BAST R., FEENEY M., LAZARUS H., NADLER L., COLVIN R., KNAPP R.
Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma.
J Clin Invest 1981;68:1331-1337.

2. O'BRIEN T., RAYMOND L., BANNON G., FORD D., HARDARDOTTIR H., MILLER F., QUIRK J..
New monoclonal antibodies identify the glycoprotein carrying the CA 125 epitope.
Am J Obstet Gynecol 1991;165:1857-1864.

3. BAST RC Jr., XU FJ., YU YH., BARNHILL S., ZHANG Z., MILSS GB.
CA 125 : The past and the future.
Int J Biol Markers 1998;13:179-187.

4. BONFRER JMG., DUFFY MJ., RADTKE M., SEGURADO O., TORRE GC., VAN DALEN A., et al.
Tumor markers in glycological cancers : EGTM recommendations.
Anticancer Res 1999;19:2807-2810.

5. NIH CONSENSUS DEVELOPMENTAL PANEL ON OVARIAN CANCER : NIH CONSENSUS CONFERENCE.
Ovarian cancer : screening, treatment and follow-up.
JAMA 1995;273:491-497.

6. PETIGNAT P., JORIS F., OBRIST R.
How CA 125 is used in routine clinical pratice.
Eur J Cancer 2000;36:1933-1937.

7. VON SCHLIPPE M., RUSTIN GJ.
Circulating tumor markers in ovarian tumors.
Forum (Genova) 2000;10:383-392.

8. COLAKOVIC S., LUKIC V., MITROVIC L., JELIC S., SUSNJAR S.,MARINKOVIC J.
Prognostic value of CA 125 kinetics and half-life in advanced ovarian cancer.
Int J Biol Markers 2000;15:147-152.

XIX. ZUSAMMENFASSUNG DES PROTOKOLLS

	GESAMT- AKTIVITÄT (µl)	KALIBRA -TOREN (µl)	PROBEN, KONTROLLEN (µl)
Kalibratoren (0-5) Proben, Kontrollen Inkubationspuffer	- - -	100 - 50	- 100 50
Inkubation	120 Minuten bei Raumtemperatur unter ständigem Schütteln (400 rpm)		
Trennung Waschlösung Trennung Waschlösung Trennung	- - - - -	absaugen (oder dekant.) 2.0 ml absaugen (oder dekant.) 2.0 ml absaugen (oder dekant.)	
Tracer	100	100	100
Inkubation	60 Minuten bei Raumtemperatur unter ständigem Schütteln (400 rpm)		
Trennung Waschlösung Trennung Waschlösung Trennung	- - - - -	absaugen (oder dekant.) 2.0 ml absaugen (oder dekant.) 2.0 ml absaugen (oder dekant.)	
Gamma Counter	60 Sekunden messen		

DIAsource Katalognummer : KIP0301	Beipackzettelnnummer: 1700867/de	Nummer der Originalausgabe: 101029/1
---	-------------------------------------	--

Revisionsdatum : 2010-10-29

Leer el protocolo completo antes de usar.

CA 125-IRMA

I. INSTRUCCIONES DE USO

Radioinmunoensayo para la determinación cuantitativa in vitro del antígeno CA 125, asociado al cáncer, en suero.

II. INFORMACIÓN GENERAL

- A. Nombre:** DIAsource CA 125-IRMA Kit
- B. Número de Catálogo:** KIP0301 : 96 tests
- C. Fabricado por:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

Para cuestiones técnicas y información sobre pedidos contactar:

Tel : +32 (0)67 88.99.99

Fax : +32 (0)67 88.99.96

III. INFORMACIÓN CLÍNICA

A Actividades Biológicas

CA 125 es una glucoproteína de tipo mucina de gran peso molecular, definida originalmente por el anticuerpo monoclonal Oc 125 establecido por Bast y col. Se han utilizado distintos epítopes, expresados conjuntamente con el epítipo Oc 125 del antígeno CA 125, para el desarrollo de ensayos heterólogos dirigidos a la determinación del antígeno CA 125.

B. Aplicación clínica

Alrededor de un 90% de los cánceres ováricos son carcinomas del epitelio celómico y contienen una glucoproteína relacionada con el epitelio celómico, designada como CA 125. CA 125 se puede localizar en la mayoría de los carcinomas de ovario serosos, endometrioides y de células claras; los tumores mucinosos manifiestan este antígeno con menor frecuencia. CA 125 también se encuentra en el epitelio de las trompas de falopio, el endometrio y el cérvix.

Un nivel elevado de CA 125 puede ser indicativo de patologías abdominales ajenas al cáncer ovárico. Aunque el nivel de CA 125 es sistemáticamente más elevado en pacientes con cáncer ovárico epitelial, puede manifestarse en diversos cánceres ginecológicos (p. ej., de endometrio, trompas de falopio) y no ginecológicos (p. ej. páncreas, mama, colon, pulmón). Los niveles de CA 125 suelen ser elevados ante una extensión del tumor más allá del útero.

IV. PRINCIPIOS DEL MÉTODO

CA 125-Irma de DIAsource es un radioinmunoensayo en dos pasos basado en la separación en tubo recubierto de anticuerpos.Mabs1, los anticuerpos de captura, se adhieren en la parte interior inferior de las paredes del tubo de poliestireno. Añada calibradores o muestras a los tubos. Después de la incubación, el lavado elimina el exceso ocasional de antígeno. La adición de Mab2, el anticuerpo señal marcado con ¹²⁵I, completará el sistema y activará la reacción inmunológica. Después del lavado, la radiactividad restante adherida al tubo, refleja la concentración del antígeno.

V. REACTIVOS SUMINISTRADOS

Reactivos	96 test Kit	Código de Color	Reconstitución			
 Tubos recubiertos con anti CA 125 (anticuerpos monoclonales)	2 x 48	naranja	Listo para uso			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> TRAZADOR: anti-CA 125 (anticuerpos monoclonales) marcado con I ¹²⁵ en tampón fosfato con albúmina bovina, suero bovino, azida (<0,1%) y un colorante rojo inerte	Ab	¹²⁵ I	1 vial 10,5 ml 760 kBq	rojo	Listo para uso	
Ab	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Calibrador cero en suero bovino y thymol	CAL	0	1 vial liofilizado	amarillo	Añadir 3 ml de agua destilada	
CAL	0					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibradores N = 1 a 5 (mirar los valores exactos en las etiquetas) en suero bovino y thymol	CAL	N	5 viales liofilizados	amarillo	Añadir 1,0 ml de agua destilada	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>INC</td><td>BUF</td></tr></table> Tampón de incubación: Tampón tris-maleato con albúmina bovina, suero bovino y azida (<0,1%)	INC	BUF	2 viales 3 ml	Negro	Listo para uso	
INC	BUF					
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Solución de lavado (Tris-HCl)	WASH	SOLN	CONC	2 viales 10 ml	marrón	Diluir 70 x con agua destilada (utilizar agitador magnético)
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controles - N = 1 o 2 en suero humano y thymol	CONTROL	N	2 viales liofilizados	plateado	Añadir 1,0 ml de agua destilada	
CONTROL	N					

Nota: Para diluciones de muestras utilizar calibrador cero.

VI. MATERIAL NO SUMINISTRADO

El material mencionado a continuación es necesario y no esta incluido en el kit

- 1. Agua destilada
- 2. Pipetas de 50µl, 100µl, 1 ml y 3 ml (Se recomienda el uso de pipetas precisas con puntas desechables de plástico)
- 3. Pipeta para suministrar de 1 a 5 ml de agua destilada
- 4. Vortex
- 5. Agitador magnético
- 6. Agitador de tubos (400rpm)
- 7. Jeringa automática 5 ml (tipo Cornwall) para el lavado
- 8. Sistema de aspiración (opcional)
- 9. Contador de radiaciones gamma para medir I¹²⁵ (mínima eficiencia 70%)

VII. PREPARACIÓN DE REACTIVOS

- A. **Calibradores:**Reconstituir el calibrador cero con 3,0 ml de agua destilada y los calibradores 1-5 con 1,0 ml.
- B. **Controles:** Reconstituir los controles con 1,0 ml de agua destilada.
- C. **Solución de lavado de trabajo:** Preparar el volumen necesario de Solución de lavado de trabajo mezclando 69 partes de agua destilada por 1 parte de Solución de lavado (70x). Utilizar un agitador magnético para homogeneizar. Desechar la solución de lavado de trabajo no utilizada al final del día.

VIII. ALMACENAJE Y CADUCIDADES DE LOS REACTIVOS

- Antes de abrir ó reconstituir todos los componentes de los kits son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si se guardan a 2-8°C.
- Los calibradores y controles son muy inestables, por lo que deben utilizarse inmediatamente después de la reconstitución, congelarse enseguida en partes alícuotas y mantenerse a –20° C durante 3 meses. Evitar congelar y descongelar sucesivamente.
- La solución de lavado de trabajo recién preparada solo debe utilizarse en el mismo día.
- Después del primer uso, el trazador es estable hasta la fecha de caducidad, si se guarda en el vial original cerrado a 2-8°C.
- Las alteraciones de los reactivos en el aspecto físico pueden indicar inestabilidad ó deterioro.

IX. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- Las muestras de suero deben ser guardadas a 2-8°C.
- Si el ensayo no se realiza en 24 hrs., almacenar las muestras a –20°.
- Evitar congelar y descongelar sucesivamente.

X. PROTOCOLO

- A. **Notas de manejo**
No utilizar el kit ó componentes después de la fecha de caducidad. No mezclar reactivos de diferente número de lote. Llevar todos los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso.
Agitar minuciosamente todos los reactivos y muestras, agitándolos o girándolos suavemente. Con el fin de evitar ninguna contaminación utilizar puntas de pipetas desechables y limpias para la adición de cada reactivo y muestra.
El uso de pipetas de precisión o equipamiento de dispensación automática mejorara la precisión. Respetar los tiempos de incubación.
Preparar la curva de calibración en cada ensayo, no utilizar los datos de un ensayo previo.
- B. **Protocolo**
 1. Marcar los tubos recubiertos por duplicado para cada unos de los estándares, muestras y controles. Para la determinación de las Cuentas Totales, marcar 2 tubos normales.
 2. Agitar brevemente los calibradores, muestras y controles y dispensar 100 µl de cada uno en sus respectivos tubos.
 3. Dispense 50 µl de tampón de incubación en cada tubo, excepto los de los recuentos totales.
 4. Incubar durante 120 minutos a temperatura ambiente en agitación constante (400 rpm).
 5. Aspirar (o decantar) el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales). Asegurarse que la punta de la pipeta de aspiración toca el fondo del tubo con el fin de aspirar todo el líquido.
 6. Lavar los tubos con 2 ml de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales) y aspirar (o decantar). Evitar la formación de espuma durante la adición de la Solución de lavado.
 7. Aspirar (o decantar) el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales)
 8. Lavar de nuevo con 2 ml de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales) y aspirar (o decantar). .
 9. Después del último lavado, dejar los tubos en posición inversa durante 2 minutos y aspirar el liquido restante.
 10. Dispensar 100 µL del trazador en cada tubo, incluyendo los tubos correspondientes a las Cuentas Totales.
 11. Incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente en agitación constante (400 rpm).
 12. Aspirar (o decantar) el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales). Asegurarse que la punta de la pipeta de aspiración toca el fondo del tubo con el fin de aspirar todo el líquido.
 13. Lavar los tubos con 2 ml de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales) y aspirar (o decantar). Evitar la formación de espuma durante la adición de la Solución de lavado.
 14. Aspirar (o decantar) el contenido de cada tubo (excepto los de Cuentas Totales)
 15. Lavar de nuevo con 2 ml de Solución de lavado de trabajo (excepto los de Cuentas Totales) y aspirar (o decantar). .
 16. Después del último lavado, dejar los tubos en posición inversa durante 2 minutos y aspirar el liquido restante.
 17. Medir la actividad de cada tubo durante 60 segundos en un Contador Gamma.

XI. CÁLCULO DE RESULTADOS

- 1. Calcular la media de los duplicados.
- 2. Representar en un gráfico semilogarítmico o linear las c.p.m. (ordenada) para cada calibrador frente a las concentraciones de CA 125 (abscisa) y dibujar una curva de calibración por los puntos de calibración, rechazando los extremos claros.
- 3. Leer la concentración para cada control y muestra por interpolación en la curva de calibración.
- 4. Métodos computarizados de computación de resultados pueden ser utilizados para la construcción de la curva de calibración. Si se utiliza un sistema automático de calculo de resultados, se recomienda usar la representación gráfica “ 4 parámetros”.

XII. EJEMPLO DE RESULTADOS

Los datos mostrados a continuación sirven como ejemplo y nunca deberán ser usados como una calibración real.

CA 125-IRMA		cpm	B/T (%)
Cuentas Totales		296905	100
Calibrador	0,0 U/ml	252	0,08
	4,8 U/ml	1081	0,36
	15,6 U/ml	2547	0,86
	60,0 U/ml	10515	3,54
	214,5 U/ml	38004	12,80
	786,0 U/ml	123494	41,59

Ya que no hay material de referencia internacional disponible para el antígeno CA 125, los valores del calibrador DIAsource CA 125-IRMA se asignan respecto a un conjunto de estándares de referencia internos.

XIII. REALIZACIÓN Y LIMITACIONES

A. Limite de detección

Veinte calibradores cero fueron medidos en una curva con otros calibradores. El limite de detección, definido como la concentración aparente resultante de dos desviaciones estándares sobre la media de enlace del calibrador cero, fue de 0,7 U/ml.

B. Precisión

PRECISIÓN INTRA-ENSAYO				PRECISIÓN INTER-ENSAYO			
Suero	N	<X> ± SD (U/ml)	CV (%)	Suero	N	<X> ± SD (U/ml)	CV (%)
A	20	31,5 ± 1,2	3,9	A	20	38,0, ± 2,0	5,3
B	20	120,8 ± 2,8	2,3	B	20	114,5 ± 5,7	5,0

SD : Desviación Estándar; CV: Coeficiente de Variación

C. Exactitud

TEST DILUCIÓN			
Muestra	Dilución	Concent. Teórica (U/ml)	Concent. Medida (U/ml)
A	1/1	-	618,8
	1/2	309,4	310,7
	1/4	154,7	161,4
	1/8	77,4	80,9
	1/16	38,7	43,2
	1/32	19,3	21,6
	1/64	9,7	10,3

Las muestras fueron diluidas con el calibrador cero.

TEST DE RECUPERACIÓN		
CA 125 añadido (U/ml)	CA 125 Recuperado (U/ml)	Recuperado (%)
31,1	35,5	114 %
65,8	67,7	103 %
124,2	135,7	109 %
257,9	268,9	104 %
531,8	552,4	104 %

D. Tiempo de espera entre la dispensación del último calibrador y la de la muestra

Como se muestra a continuación la precisión del ensayo se mantiene incluso en el caso de dispensar la muestra 30 minutos después de haberse adicionado el calibrador a los tubos recubiertos.

TIEMPO DE ESPERA				
	0'	10'	20'	30'
S 1 (U/ml)	35,9	37,2	39,3	38,5
S 2 (U/ml)	104,5	113,5	117,7	116,6

E. Efecto “hook”

Las muestras que contienen 340.000 U/ml de CA 125 proporcionan un resultado superior al del último punto de calibración.

F. Especificidad

DIAsource CA 125 IRMA se basa en dos anticuerpos monoclonales de ratón, OvK95 y Ov185, que se dirigen contra dos epítopes independientes del núcleo proteínico del antígeno CA 125.

XIV. LIMITACIONES

- Es posible que las muestras de pacientes que han recibido preparaciones de anticuerpos monoclonales de ratón para diagnóstico o terapia, puedan contener anticuerpos humanos anti ratón (HAMA). Los resultados de estas muestras analizadas con kits que utilizan anticuerpos monoclonales de ratón, pueden dar valores falsamente aumentados o disminuidos.
- Los anticuerpos heterófilos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas que forman parte del reactivo, interfiriendo con los inmunoensayos in vitro. Pacientes que en forma rutinaria están en contacto con animales o productos derivados de suero animal, pueden tender a presentar esta interferencia y se pueden observar valores anómalos en caso de haber presencia de anticuerpos heterófilos. Evalúe cuidadosamente los resultados de aquellos pacientes sospechosos de tener estos anticuerpos. Si los resultados no concuerdan con otras observaciones clínicas, será necesario obtener información adicional antes de hacer un diagnóstico.

XV. CONTROL DE CALIDAD INTERNO

- Si los resultados obtenidos para el Control 1 y/o Control 2 no están dentro del rango especificado en la etiqueta del vial, los resultados obtenidos no podrán ser utilizados a no ser que se pueda dar una explicación convincente de dicha discrepancia
- Si es conveniente, - cada laboratorio puede utilizar sus propios pools de controles, los cuales se guardan en alícuotas congeladas. No congelar y descongelar más de dos veces.
- Los criterios de aceptación de la diferencia entre los resultados de los duplicados de las muestras se apoyan en las prácticas de laboratorio corrientes.

XVI. INTERVALOS DE REFERENCIA

Entre 154 individuos al parecer sanos, los 98% de los resultados estaban debajo de 35,0 U/ml.

Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos en este ensayo siempre deben utilizarse en combinación con el examen clínico, el historial médico del paciente y otros resultados.

XVII. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

Seguridad

Para uso solo en diagnóstico in vitro. Este kit contiene I¹²⁵ (vida media : 60 días) emisor de rayos X (28 keV) y de rayos γ (35.5 keV) ionizantes. Este producto radiactivo solo puede ser manejado y utilizado por personas autorizadas; la compra, almacenaje, uso y cambio de productos radiactivos están sujetos a la legislación del país del usuario. En ningún caso el producto deberá ser suministrado a humanos y animales. Todo el manejo de producto radiactivo se hará en una área señalizada, diferente de la de paso regular. Deberá de utilizarse un libro de registros de productos radiactivos utilizados. El material de laboratorio, vidrio que podría estar contaminado radiactivamente deberá de descontaminarse para evitar la contaminación con otros isótopos.

Cualquier derramamiento radiactivo deberá ser limpiado de inmediato de acuerdo con los procedimientos de seguridad. Los desperdicios radiactivos deberán ser almacenados de acuerdo con las regulaciones y normativas vigentes de la legislación a la cual pertenezca el laboratorio. El ajustarse a las normas básicas de seguridad radiológica facilita una protección adecuada.

Los componentes de sangre humana utilizados en este kit han sido testados por métodos aprobados por la CEE y/ó la FDA dando negativo a HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 y 2. No se conoce ningún método que asegure que los derivados de la sangre humana no transmitan hepatitis, SIDA ó otras infecciones. Por lo tanto el manejo de los reactivos y muestras se hará de acuerdo con los procedimientos de seguridad locales.

Todos los productos animales y derivados han sido obtenidos a partir de animales sanos. Componentes bovinos originales de países donde BSE no ha sido informado. Sin embargo, los componentes conteniendo sustancias animales deberán ser consideradas como potencialmente infecciosas.

Evitar cualquier contacto de los reactivos con la piel (azida sódica como conservante). La azida en este kit puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías y producir azidas metálicas altamente explosivas. Durante el proceso de lavado, hacer circular mucha cantidad de agua por el sumidero para evitar el almacenamiento de la azida.

No fumar, beber, comer ó utilizar cosméticos en el área de trabajo. No pipetear con la boca. Utilizar ropa de protección y guantes.

XVIII. BIBLIOGRAFIA

1. BAST R., FEENEY M., LAZARUS H., NADLER L., COLVIN R., KNAPP R.
Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma.
J Clin Invest 1981;68:1331-1337.

2. O'BRIEN T., RAYMOND L., BANNON G., FORD D., HARDARDOTTIR H., MILLER F., QUIRK J..
New monoclonal antibodies identify the glycoprotein carrying the CA 125 epitope.
Am J Obstet Gynecol 1991;165:1857-1864.

3. BAST RC Jr., XU FJ., YU YH., BARNHILL S., ZHANG Z., MILSS GB.
CA 125 : The past and the future.
Int J Biol Markers 1998;13:179-187.

4. BONFRER JMG., DUFFY MJ., RADTKE M., SEGURADO O., TORRE GC., VAN DALEN A., et al.
Tumor markers in glycological cancers : EGTM recommendations.
Anticancer Res 1999;19:2807-2810.

5. NIH CONSENSUS DEVELOPMENTAL PANEL ON OVARIAN CANCER : NIH CONSENSUS CONFERENCE.
Ovarian cancer : screening, treatment and follow-up.
JAMA 1995;273:491-497.

6. PETIGNAT P., JORIS F., OBRIST R.
How CA 125 is used in routine clinical pratice.
Eur J Cancer 2000;36:1933-1937.

7. VON SCHLIPPE M., RUSTIN GJ.
Circulating tumor markers in ovarian tumors.
Forum (Genova) 2000;10:383-392.

8. COLAKOVIC S., LUKIC V., MITROVIC L., JELIC S., SUSNJAR S.,MARINKOVIC J.
Prognostic value of CA 125 kinetics and half-life in advanced ovarian cancer.
Int J Biol Markers 2000;15:147-152.

XIX. RESUMEN DEL PROTOCOLO

	CUENTAS TOTALES (µl)	CALIBRADOR ES (µl)	MUESTRAS CONTROL(ES) (µl)
Calibradores (0 al 5)	-	100	-
Muestras, controles	-	-	100
Tampón de incubación	-	50	50
Incubación	120 minutos a T.A en agitación constante (400 rpm)		
Separación	-	aspirar	
Solución de Lavado	-	2,0 ml	
Separación	-	aspirar	
Solución de Lavado	-	2,0 ml	
Separación	-	aspirar	
Trazador	100	100	100
Incubación	60 minutos a T.A en agitación constante (400 rpm)		
Separación	-	aspirar	
Solución de Lavado	-	2,0 ml	
Separación	-	aspirar	
Solución de Lavado	-	2,0 ml	
Separación	-	aspirar	
Contaje	Contar los tubos durante 60 segundos		

DIAsource Catalogo Nr : KIP0301	P.I. Numero : 1700867/es	Revisión nr : 101029/1
------------------------------------	-----------------------------	---------------------------

Fecha de la revisión : 2010-10-29

Prima di utilizzare il kit leggere attentamente le istruzioni per l'uso

CA 125-IRMA

I. USO DEL KIT

Kit radioimmunologico per la determinazione quantitativa in vitro dell'antigene CA 125, associato alle neoplasie, nel siero.

II. INFORMAZIONI DI CARATTERE GENERALE

- A. Nome commerciale:** DIASource CA 125-IRMA Kit
- B. Numero di catalogo:** KIP0301: 96 test
- C. Prodotto da:** DIASource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgio.

Per informazioni tecniche o su come ordinare il prodotto contattare:
Tel: +32 (0) 67 88.99.99 Fax: +32 (0) 67 88.99.96

III. INFORMAZIONI CLINICHE

A. Attività biologiche

La CA 125 è una glicoproteina simil-mucina a elevato peso molecolare, definita in origine dall'anticorpo monoclonale Oc 125 (Mab) identificato da Bast et al. Diversi epitopi, co-espressi con l'epitopo Oc 125 sull'antigene CA 125, sono stati utilizzati per lo sviluppo di test eterologhi per la determinazione dell'antigene CA 125.

B. Applicazioni cliniche

Circa il 90% dei tumori ovarici è rappresentata dai carcinomi dell'epitelio celomatico e contengono una glicoproteina legata all'epitelio celomatico denominata CA 125. La CA 125 è localizzabile nella maggior parte dei carcinomi ovarici della sierosa, dell'endometrio e a cellule chiare; i tumori mucinosi esprimono questo antigene meno frequentemente. La CA 125 è anche riscontrabile nell'epitelio delle tube di Falloppio, dell'endometrio e della cervice uterina.

Livelli elevati di CA 125 possono derivare da patologie addominali diverse dal carcinoma ovarico. Sebbene il livello di CA 125 sia più elevato nei pazienti con carcinoma ovarico epiteliale, è possibile evidenziarlo anche in un certo numero di carcinomi ginecologici (es. endometrio, tuba di Falloppio) e non-ginecologici (es. pancreas, mammella, colon, polmone). I livelli di CA 125 sono frequentemente elevati nei tumori che si diffondono oltre l'utero.

IV. PRINCIPIO DEL METODO

Il kit DIASource CA 125-IRMA è un dosaggio immunoradiometrico a due fasi con separazione coated tube. Gli anticorpi di cattura, Mabs 1, sono adsorbiti sulla superficie interna della parte inferiore di provette di polistirene. Aggiungere i calibratori o i campioni alle provette. Dopo incubazione, lavare per rimuovere l'eventuale eccesso di antigene. L'aggiunta di anticorpi di segnale Mabs 2, marcati con ¹²⁵I, provocano un aumento di affinità per i Mabs 1 e l'inizio della reazione immunologica. Al termine dell'incubazione la radioattività non legata alla fase solida viene allontanata mediante lavaggio. La radioattività residua è direttamente proporzionale alla concentrazione di CA 125 in standard e campioni.

V. REATTIVI FORNITI

Reattivi	Kit da 96 test	Codice colore	Volume di ricostituzione			
 Provette sensibilizzate con anticorpo anti CA 125 (anticorpi monoclonali)	2 x 48	Arancione	Pronte per l'uso			
<table border="1"><tr><td>Ab</td><td>¹²⁵I</td></tr></table> Marcato: anti-CA 125 (Anticorpi monoclonali) marcati con ¹²⁵ I in tampone fosfato con BSA, siero bovino, sodio azide (<0,1%) e un colorante inerte rosso	Ab	¹²⁵ I	1 flacone 10,5 ml 760 kBq	Rosso	Pronto per l'uso	
Ab	¹²⁵ I					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>0</td></tr></table> Calibratore zero in siero bovino, contenente timolo	CAL	0	1 flacone liofiliz.	Giallo	Aggiungere 3 ml di acqua distillata	
CAL	0					
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>N</td></tr></table> Calibratore 1-5 (le concentrazioni esatte degli calibratore sono riportate sulle etichette dei flaconi), in siero bovino, contenente timolo	CAL	N	5 flaconi liofiliz.	Giallo	Aggiungere 1,0 ml di acqua distillata	
CAL	N					
<table border="1"><tr><td>INC</td><td>BUF</td></tr></table> Tampone incubazione: tampone Tris Maleato con BSA, siero bovino e azide (<0,1%)	INC	BUF	2 flaconi 3 ml	Nero	Pronto per l'uso	
INC	BUF					
<table border="1"><tr><td>WASH</td><td>SOLN</td><td>CONC</td></tr></table> Tampone di lavaggio (TRIS HCl)	WASH	SOLN	CONC	2 flaconi 10 ml	Bruno	Diluire 70 x con acqua distillata usando un agitatore magnetico
WASH	SOLN	CONC				
<table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>N</td></tr></table> Controlli: N = 1 o 2, in siero umano, contenente timolo	CONTROL	N	2 flaconi liofiliz.	Argento	Aggiungere 1,0 ml di acqua distillata	
CONTROL	N					

Note: Usare lo calibratore zero per diluire i campioni.

VI. REATTIVI NON FORNITI

Il seguente materiale è richiesto per il dosaggio ma non è fornito nel kit.

- 1. Acqua distillata.
- 2. Pipette per dispensare 50 µl, 100 µl, 1 ml e 3 ml (Si raccomanda di utilizzare pipette accurate con puntale in plastica monouso).
- 3. Pipettare per dispensare da 1 a 5 ml di acqua distillata
- 4. Agitatore tipo vortex.
- 5. Agitatore magnetico.
- 6. Agitatore rotante (400rpm)
- 7. Pipetta a ripetizione automatica 5 ml per i lavaggi.
- 8. Sistema di aspirazione dei campioni (facoltativo).
- 9. Contatore gamma con finestra per ¹²⁵I (efficienza minima 70%)

VII. PREPARAZIONE DEI REATTIVI

- A. **Calibratore:** Ricostituire il calibratore zero con 3 ml di acqua distillata e i calibratori 1-5 con 1,0 ml.
- B. **Controlli:** Ricostituire i controlli con 1,0 ml di acqua distillata.
- C. **Soluzione di lavoro del tampone di lavaggio:** Preparare la quantità necessaria di soluzione di lavoro del tampone di lavaggio aggiungendo 69 parti di acqua distillata ad una parte di tampone di lavaggio concentrato (70 x). Usare un agitatore magnetico per rendere la soluzione omogenea. La soluzione di lavoro va scartata al termine della giornata.

VIII. CONSERVAZIONE E SCADENZA DEI REATTIVI

- I reattivi non utilizzati sono stabili a 2-8°C fino alla data riportata su ciascuna etichetta.
- Calibratori e controlli sono molto instabili, utilizzarli immediatamente dopo ricostituzione, congelarli immediatamente in aliquote e mantenerli a -20°C per 3 mesi. Evitare ripetuti cicli di congelamento-scongelamento.
- La soluzione di lavoro del tampone di lavaggio deve essere preparata fresca ogni volta e usata nello stesso giorno della preparazione.
- Dopo apertura del flacone, il marcato è stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta, se conservato a 2-8°C nel flacone originale ben tappato.
- Alterazioni dell'aspetto fisico dei reattivi possono indicare una loro instabilità o deterioramento.

IX. RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

- Conservare i campioni di siero a 2-8°C.
- Se non si desidera eseguire il dosaggio entro 24 ore dal prelievo, si raccomanda di conservare i campioni a -20°C.
- Evitare ripetuti cicli di congelamento-scongelamento dei campioni.

X. METODO DEL DOSAGGIO

A. Avvertenze generali

Non usare il kit o suoi componenti oltre la data di scadenza. Non mescolare reattivi di lotti diversi. Prima dell'uso portare tutti i reattivi a temperatura ambiente.

Mescolare delicatamente i campioni per inversione o rotazione. Per evitare cross-contaminazioni, cambiare il puntale della pipetta ogni volta che si usi un nuovo reattivo o campione.

L'uso di pipette ben tarate e ripetibili o di sistemi di pipettamento automatici migliora la precisione del dosaggio. Rispettare i tempi di incubazione.

Allestire una curva di taratura per ogni seduta analitica, in quanto non è possibile utilizzare per un dosaggio curve di taratura di sedute analitiche precedenti.

B. Metodo del dosaggio

- 1. Numerare le provette sensibilizzate necessarie per dosare in duplicato ogni standard, campione o controllo. Numerare 2 provette non sensibilizzate per la determinazione dell'attività totale.
- 2. Agitare brevemente su vortex standard, campioni e controlli. Dispensare 100 µl di standard, campioni e controlli nelle rispettive provette.
- 3. Dispensare 50 µl di tampone di incubazione in ogni provetta ad eccezione di quelle per i conteggi totali.
- 4. Incubare 120 minuti a temperatura ambiente in agitazione (400 rpm).
- 5. Aspirare (o decantare) il liquido contenuto in tutte le provette, tranne in quelle per l'attività totale, facendo attenzione che il puntale dell'aspiratore raggiunga il fondo delle provette e che aspiri tutto il liquido.
- 6. Lavare tutte le provette, tranne quelle per l'attività totale, con 2 ml di soluzione di lavoro di tampone di lavaggio, evitando di provocare la formazione di schiuma.
- 7. Aspirare (o decantare) il liquido contenuto in tutte le provette, tranne in quelle per l'attività totale.
- 8. Lavare nuovamente tutte le provette, tranne quelle per l'attività totale, con 2 ml di soluzione di lavoro di tampone di lavaggio e aspirare (o decantare).
- 9. Dopo il secondo lavaggio lasciare decantare le provette in posizione verticale per due minuti circa e aspirare eventuali gocce di liquido residue.
- 10. Dispensare 100 µl di marcato in tutte le provette, comprese quelle per l'attività totale.
- 11. Incubare 60 minuti a temperatura ambiente in agitazione (400 rpm).
- 12. Aspirare (o decantare) il liquido contenuto in tutte le provette, tranne in quelle per l'attività totale, facendo attenzione che il puntale dell'aspiratore raggiunga il fondo delle provette e che aspiri tutto il liquido.
- 13. Lavare tutte le provette, tranne quelle per l'attività totale, con 2 ml di soluzione di lavoro di tampone di lavaggio, evitando di provocare la formazione di schiuma.
- 14. Aspirare (o decantare) il liquido contenuto in tutte le provette, tranne in quelle per l'attività totale.
- 15. Lavare nuovamente tutte le provette, tranne quelle per l'attività totale, con 2 ml di soluzione di lavoro di tampone di lavaggio e aspirare (o decantare).
- 16. Dopo il secondo lavaggio lasciare decantare le provette in posizione verticale per due minuti circa e aspirare eventuali gocce di liquido residue.
- 17. Contare tutte le provette per 1 minuto con il contatore gamma.

XI. CALCOLO DEI RISULTATI

- 1. Calcolare la media delle determinazioni in duplicato.
- 2. Costruire la curva di calibrazione su carta millimetrata semilogaritmica o lineare ponendo in ordinata le medie dei colpi per minuto (cpm) dei replicati degli standard e in ascissa le rispettive concentrazioni di CA 125. Scartare i duplicati palesemente discordanti.
- 3. Determinare le concentrazioni e controlli per interpolazione sulla curva di taratura.
- 4. E’ possibile utilizzare un sistema di interpolazione dati automatizzato. Con un sistema automatico di interpolazione dati, utilizzare la curva a 4 parametri.

XII. CARATTERISTICHE TIPICHE

I sotto riportati sono forniti a titolo di esempio e non devono essere utilizzati per calcolare le concentrazioni di CA 125 in campioni e controlli al posto della curva standard, che va eseguita per ogni dosaggio.

CA 125-IRMA		cpm	B/T (%)
Attività totale		296905	100
Calibratore	0,0 U/ml	252	0,08
	4,8 U/ml	1081	0,36
	15,6 U/ml	2547	0,86
	60,0 U/ml	10515	3,54
	214,5 U/ml	38004	12,80
	786,0 U/ml	123494	41,59

Dal momento che non è disponibile materiale di riferimento internazionale per l'antigene CA 125, i valori del calibratore DAsource CA 125-IRMA sono assegnati rispetto a un set di standard di riferimento in-house.

XIII. CARATTERISTICHE E LIMITI DEL METODO

A. Sensibilità

Venti replicati dello standard zero sono stati dosati insieme agli altri standard. La sensibilità, calcolata come concentrazione apparente di un campione con cpm pari alla media più 2 deviazioni standard di 20 replicati dello standard zero, è risultata essere 0,7 U/ml.

B. Precisione

INTRA SAGGIO				INTER SAGGIO			
Siero	N	<X> ± SD (U/ml)	CV (%)	Siero	N	<X> ± SD (U/ml)	CV (%)
A	20	31,5 ± 1,2	3,9	A	20	38,0 ± 2,0	5,3
B	20	120,8 ± 2,8	2,3	B	20	114,5 ± 5,7	5,0

SD : Deviazione Standard; CV: Coefficiente di Variazione

C. Accuratezza

TEST DI DILUIZIONE			
Campione	Diluizione	Concentrazione teorica (U/ml)	Concentrazione misurata (U/ml)
A	1/1	-	618,8
	1/2	309,4	310,7
	1/4	154,7	161,4
	1/8	77,4	80,9
	1/16	38,7	43,2
	1/32	19,3	21,6
	1/64	9,8	10,3

I campioni sono stati diluiti con calibratore zero.

TEST DI RECUPERO		
CA 125 aggiunta (U/ml)	CA 125 recuperata (U/ml)	Recupero (%)
31,1	35,5	114 %
65,8	67,7	103 %
124,2	135,7	109 %
257,9	268,9	104 %
531,8	552,4	104 %

D. Tempo trascorso tra l’aggiunta dell’ultimo calibratore e il campione

Come mostrato nella seguente tabella, il dosaggio si mantiene accurato anche quando un campione viene aggiunto nelle provette sensibilizzate 30 minuti dopo l’aggiunta del calibratore.

TEMPO TRASCORSO				
	0'	10'	20'	30'
S 1 (U/ml)	35,9	37,2	39,3	38,5
S 2 (U/ml)	104,5	113,5	117,7	116,6

E. Effetto hook

I campioni contenenti 340.000 U/ml CA 125 danno un risultato maggiore rispetto all'ultimo punto di calibrazione.

F. Specificità

Il DAsource CA 125 IRMA si basa su due anticorpi monoclonali di topo, OvK95 e Ov185, diretti contro due epitopi indipendenti del core proteico dell'antigene CA 125.

XIV. LIMITAZIONI

- Campioni di pazienti che abbiano assunto preparazioni a base di anticorpi monoclonali murini a scopo diagnostico o terapeutico potrebbero contenere anticorpi umani antimurini (HAMA). Tali campioni, quando testati con metodiche basate sull’impiego di anticorpi monoclonali murini, potrebbero produrre valori falsamente elevati o ridotti.
- Nell’esecuzione di tecniche di immunodosaggio in vitro, la presenza in campioni di siero umano di anticorpi eterofili che possono reagire con immunoglobuline reattive può dar luogo ad interferenze. Pazienti sistematicamente esposti al contatto con animali o con prodotti derivanti da siero animale possono essere oggetto di tale tipo di interferenza, con conseguente riscontro di risultati anomali in caso di presenza di anticorpi eterofili. Si raccomanda pertanto di valutare attentamente i risultati relativi ai pazienti con sospetta presenza di tale tipo di anticorpo. Qualora i risultati non fossero in linea con le altre osservazioni cliniche si renderà necessaria la raccolta di ulteriori informazioni prima della formulazione di una diagnosi.

XV. CONTROLLO DI QUALITA’ INTERNO

- Se i risultati ottenuti dosando il Controllo 1 e il Controllo 2 non sono all’interno dei limiti riportati sull’etichetta dei flaconi, non è opportuno utilizzare i risultati ottenuti per i campioni, a meno che non si trovi una giustificazione soddisfacente.
- Ogni laboratorio può preparare un proprio pool di sieri da utilizzare come controllo, da conservare congelato in aliquote. Non congelare e scongelare un’aliquota più di due volte.
- I criteri di accettazione delle differenze tra i risultati in duplicato dei campioni devono basarsi sulla buona prassi di laboratorio.

XVI. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Fra 154 individui apparentemente in buona salute, 98% dei risultati erano inferiore a 35,0 U/ml.

Per fini diagnostici, i risultati di questo dosaggio devono essere sempre utilizzati come complemento ad esami clinici, dati anamnestici e altro.

XVII. PRECAUZIONI PER L’USO

Sicurezza

Il kit è solo per uso diagnostico in vitro. Il kit contiene ¹²⁵I (emivita: 60 giorni) emettente raggi X (28 keV) e γ (35.5 keV) ionizzanti.

L’acquisto, a detenzione, l’utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale. In nessun caso il prodotto può essere somministrato ad esseri umani o animali.

Usare sempre guanti e camici da laboratorio quando si manipola materiale radioattivo. Le sostanze radioattive devono essere conservate in propri contenitori in appositi locali che devono essere interdetti alle persone non autorizzate. Deve essere tenuto un registro di carico e scarico del materiale radioattivo. Il materiale di laboratorio e la vetreria deve essere dedicato all’uso di isotopi specifici per evitare cross-contaminazioni.

In caso di contaminazione o dispersione di materiale radioattivo, fare riferimento alle norme locali di radioprotezione. I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti secondo le norme locali di radioprotezione. Lo scrupoloso rispetto delle norme per l’uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori. I reattivi di origine umana presenti nel kit sono stati dosati con metodi approvati da organismi di controllo europei o da FDA e si sono rivelati negativi per HBs Ag, anti HCV, anti HIV1 e anti HIV2. Non sono disponibili metodi in grado di offrire la certezza assoluta che derivati da sangue umano non possano provocare epatiti, AIDS o trasmettere altre infezioni. Manipolare questi reattivi o i campioni

di siero o plasma secondo le procedure di sicurezza vigenti.
Tutti i prodotti di origine animale o loro derivati provengono da animali sani. I componenti di origine bovina provengono da paesi dove non sono stati segnalati casi di BSE. E' comunque necessario considerare i prodotti di origine animale come potenziali fonti di infezioni.

Evitare ogni contatto dell'epidermide con i reattivi contenenti sodio azide come conservante. La sodio azide può reagire con piombo rame o ottone presenti nelle tubature di scarico per formare metallo-azidi esplosive. Smaltire questi reattivi facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi.
Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici. Non pipettare i reattivi con pipette a bocca.

XVIII. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. BAST R., FEENEY M., LAZARUS H., NADLER L., COLVIN R., KNAPP R.
Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma.
J Clin Invest 1981;68:1331-1337.

2. O'BRIEN T., RAYMOND L., BANNON G., FORD D., HARDARDOTTIR H., MILLER F., QUIRK J..
New monoclonal antibodies identify the glycoprotein carrying the CA 125 epitope.
Am J Obstet Gynecol 1991;165:1857-1864.

3. BAST RC Jr., XU FJ., YU YH., BARNHILL S., ZHANG Z., MILSS GB.
CA 125 : The past and the future.
Int J Biol Markers 1998;13:179-187.

4. BONFRER JMG., DUFFY MJ., RADTKE M., SEGURADO O., TORRE GC., VAN DALEN A., et al.
Tumor markers in glycological cancers : EGTM recommendations.
Anticancer Res 1999;19:2807-2810.

5. NIH CONSENSUS DEVELOPMENTAL PANEL ON OVARIAN CANCER : NIH CONSENSUS CONFERENCE.
Ovarian cancer : screening, treatment and follow-up.
JAMA 1995;273:491-497.

6. PETIGNAT P., JORIS F., OBRIST R.
How CA 125 is used in routine clinical practice.
Eur J Cancer 2000;36:1933-1937.

7. VON SCHLIPPE M., RUSTIN GJ.
Circulating tumor markers in ovarian tumors.
Forum (Genova) 2000;10:383-392.

8. COLAKOVIC S., LUKIC V., MITROVIC L., JELIC S., SUSNJAR S.,MARINKOVIC J.
Prognostic value of CA 125 kinetics and half-life in advanced ovarian cancer.
Int J Biol Markers 2000;15:147-152.

XIX. SCHEMA DEL DOSAGGIO

	Attività totale ml	Calibratore ml	CAMPIONI Controlli ml
Calibratore (0 - 5) Campioni, controlli Tampone incubazione	- - -	100 - 50	- 100 50
Incubazione	120 minuti a temperatura ambiente in agitazione (400 rpm)		
Separazione Soluzione di lavoro tampone di lavaggio Separazione Soluzione di lavoro tampone di lavaggio Separazione		Aspirare 2 ml Aspirare 2 ml Aspirare	
Marcato	100	100	10
Incubazione	60 minuti a temperatura ambiente in agitazione (400 rpm)		
Separazione Soluzione di lavoro tampone di lavaggio Separazione Soluzione di lavoro tampone di lavaggio Separazione		Aspirare 2 ml Aspirare 2 ml Aspirare	
Conteggio	Contare le provette per 1 minuto		

Numero di catalogo di DIASource : KIP0301	P.I. numero : 1700867/it	Revisione numero : 101029/1
--	-----------------------------	--------------------------------

Data di revisione : 2010-10-29



Прочетете целия протокол преди употреба

CA 125-IRMA

I. УПОТРЕБА

Имунорадиометричен набор за количествено определяне in vitro на туморния маркер CA 125 в серум.

II. ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

A. Патентовано име:	DIAsource CA 125-IRMA Kit
B. Каталоген номер:	KIP0301: 96 теста
C. Произведено от:	DIAsource ImmunoAssays S.A. Rue De l'Industrie 8 B-1400 Nivelles, Belgium.

За техническа помощ или поръчка:
Тел.: +32 (0)67 88.99.99 Факс: +32 (0)67 88.99.96

III. КЛИНИЧЕН ПРЕГЛЕД

A. Биологична активност

CA 125 представлява муцинов гликопротеин с високо молекулно тегло, първоначално дефиниран от моноклоналното антитяло Oc 125 (Mab), открито от Баст ет ал. За разработването на туморни изследвания с цел определянето на карциномния антиген CA 125 са използвани различни епитопи, проявяващи се заедно с епитопа Oc 125 в карциномния антиген CA 125.

B. Клинични приложения

Приблизително 90% от туморите на яйчниците представляват целомни епителиални карциноми и съдържат гликопротеин, свързан с целомния епител, обозначаван CA 125. CA 125 може да бъде открит в по-голямата част от серумните, ендометрионидните и светлоклетъчните овариални карциноми; този антиген се проявява муцинозните тумори в по-редки случаи. CA 125 може да се открие и в епитела на фалопиевите тръби, ендометриума и маточната шийка.

Повишените нива на CA 125 могат да се дължат на коремни заболявания, различни от овариалния рак. Въпреки че нивата на CA 125 се повишават в повечето случаи при пациенти с епителиален карцином на яйчниците, този антиген може да се прояви в редица гинекологични (например, ендометриум, фалопиева тръба) и негинекологични (например, панкреас, гърда, дебело черво, бял дроб) карциноми. Нивата на CA 125 често пъти се повишават и при метастазиране извън матката.

IV. ПРИНЦИПИ НА МЕТОДА

DIAsource CA 125-IRMA представлява двуетапно имунорадиометрично изследване, базирано на сепарация на покрити епруветки. Mab1, прихващащото анти тяло, се прикрепва към долната и вътрешната повърхност на пластмасова епруветка. Към нея се добавят калибратори или проби. След период на инкубация чрез измиване се отстранява случайния излишък на антигена. Добавянето на Mabs2, които са сигнални анти тела, маркирани с ¹²⁵I, завършват системата и пускат в ход имунологичната реакция. След измиване остатъчната радиоактивност, свързана с епруветката, отразява антигенната концентрация.

V. ИЗПОЛЗВАНИ РЕАГЕНТИ

Реагенти	Кит за анализ96	Цветен код	Приготвяне
Епруветки, покрити с анти-CA 125 (моноклонални анти тела)	2 x 48	оранжев	Готов за употреба
Ab ¹²⁵I Анти-CA 125-¹²⁵I (моноклонални анти тела) във фосфатен буфер с волски серумен албумин, азид (<0.1%), волски серум и инертна червена боя	1 флакон 10,5 ml 760 kBq	червен	Готов за употреба
CAL 0 Нулев Калибратор във волски серум с тимол	1 флакон лиофилизира н	жълт	Добавете 3,0 ml дестилирана вода
CAL N Калибратори 1-5 във волски серум с тимол (виж точните стойности на етикетите на флаконите)	5 флакона лиофилизира ни	жълт	Добавете 1,0 ml дестилирана вода
INC BUF Инкубационен буфер: трис-буфер с малеат, с волски серумен албумин, волски серум и азид.	2 флакона 3 ml	черен	Готов за употреба
WASH SOLN CONC Измиваш разтвор (TRIS-HCl)	2 флакона 10 ml	кафяв	Разредете 70x с дестилирана вода (използвайте магнитен сепаратор)
CONTROL N Контроли 1 и 2 в човешки серум с тимол	2 флакона лиофилизира ни	сребърен	Добавете 1,0 ml дестилирана вода

Забележка: Използвайте нулевия калибратор за серумните разреждания.

VI. СРЕДСТВА, КОИТО НЕ СЕ ОСИГУРЯВАТ

Следните материали са необходими, но не се осигуряват в набора:

- 1. Дестилирана вода
- 2. Пипети от: 50 µl, 100 µl, 1 ml и 3 ml (препоръчва се използването на прецизни пипети с накрайници за еднократна употреба).
- 3. Пипета за подаване на 1 до 5 ml дестилирана вода
- 4. Завихрящ смесител
- 5. Магнитен сепаратор
- 6. Клатещо устройство за епруветки (400 оборота в минута)
- 7. 5 ml автоматична спринцовка (тип Corgwall) за измиване
- 8. Аспирационна система (по избор).
- 9. Всякакъв гама брояч, който може да измери употребеното количество ¹²⁵I (минимален капацитет от 70%)

VII. ПРИГОТВЯНЕ НА РЕАГЕНТА

- A. **Калибратори:** Реконституирайте нулевия калибратор с 3 ml дестилирана вода, а другия калибратор – с 1,0 ml дестилирана вода.

- B. **Контроли:** Реконституирайте контролите с 1,0 ml дестилирана вода.
- C. **Работен измиваш разтвор:** Подгответе адекватен обем от работния измиваш разтвор чрез добавянето на 69 обема дестилирана вода към 1 обем от измивашия разтвор (70x). Използвайте магнитен сепаратор, за да хомогенизирате. Изхвърлете неупотребеното количество от работния измиваш разтвор в края на деня.

VIII. СЪХРАНЕНИЕ И СРОК НА ГОДНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

- Всички компоненти на кита са стабилни до датата на срока на годност, посочен на опаковката, при температура на съхранение от 2 °C до 8°C преди отваряне или реконституиране.
- Калибраторите и контролите са твърде нестабилни, използвайте ги непосредствено сред реконституирането, замразете ги веднага в аликвоти и ги съхранявайте при –20°C в продължение на 3 месеца. Избягвайте последващи цикли на замразяване-размразяване.
- Прясно приготвения Работен измиваш разтвор трябва да бъде използван същия ден.
- След първата употреба, трейсера е стабилен до изтичане срока на годност, ако се съхранява в оригиналния добре затворен флакон при температури 2-8°C.
- Промени във физическия вид на реагентите на кита индицират нестабилност или негодност.

IX. СЪБИРАНЕ НА ПРОБИТЕ И ОБРАБОТКА

- Серумът и плазмата трябва да се съхраняват при температури 2 – 8°C.
- Ако тестът не се направи в рамките на 24 часа, се препоръчва съхраняването му при -20°C.
- Избягвайте последващи цикли на замразяване-размразяване.

X. ПРОЦЕДУРА

A. Общи бележки

Не използвайте кита или компонентите му след датата на изтичане срока на годност. Не смесвайте материали от различни партии китове. Преди употреба оставете всички реагенти на стайна температура. Внимателно смесвайте всички реагенти с пробите чрез нежно раклащане или въртливо размесване. За да избегнете кръстосана контаминация, използвайте чист пипетен накрайник за еднократна употреба за добавянето на всеки реагент към съответната проба. Високо прецизираните пипети или автоматичните пипети биха подобрили точността. Съобразявайте се с времето за инкубация. Подгответе калибрационна крива за всяко измерване и не използвайте данни от предишни измервания.

B. Процедура

1. Означете две по две покритите епруветки за всеки калибратор, контрола и проба. За определяне на общия брой импулси, обозначете 2 нормални епруветки.
2. Разклатете за кратко време калибраторите, контролите и пробите и разпределете по 100 µl от всяко в съответните епруветки.
3. Разпределете 50 µl инкубационен буфер във всяка епруветка, освен тези, предназначени за определяне на общия брой импулси.
4. Инкубирайте в продължение на 120 минути при стайна температура върху клатещо устройство за епруветки (400 оборота в минута).
5. Аспирирайте (или прелейте) съдържанието на всяка епруветка (освен епруветките за определяне на общия брой импулси). Уверете се, че пластмасовият край на аспиратора достига дъното на покритата епруветка, за да може да отстрани цялата течност.
6. Изплакнете епруветките с 2 ml от Измивашия разтвор (освен епруветките за определяне на общия брой импулси) и аспирирайте (или прелейте). Избягвайте получаването на пяна по време на добавянето на Работния измиваш разтвор.
7. Изплакнете отново епруветките с 2 ml от Измивашия разтвор (освен епруветките за определяне на общия брой импулси) и аспирирайте (или прелейте).
8. Оставете епруветките в изправено положение за две минути и аспирирайте останалите капки течност.
9. Разпределете 100 µl анти-CA 125 натоварен с ¹²⁵йод във всяка епруветка, включително тези за определяне на общия брой импулси.
10. Инкубирайте за 1 час при стайна температура в клатещо устройство за епруветки (400 оборота в минута).
11. Аспирирайте (или прелейте) съдържанието на всяка епруветка (освен епруветките за определяне на общия брой импулси). Уверете се, че пластмасовият край на аспиратора достига дъното на покритата епруветка, за да може да отстрани цялата течност.
12. Изплакнете епруветките с 2 ml от Измивашия разтвор (освен епруветките за определяне на общия брой импулси) и аспирирайте

- (или прелейте). Избягвайте получаването на пяна по време на добавянето на Работния измиващ разтвор.
- Изплакнете отново епруветките с 2 ml от Измиващия разтвор (освен епруветките за определяне на общия брой импулси) и аспирирайте (или прелейте).
 - Оставете епруветките в изправено положение за две минути и аспирирайте останалите капки течност.
 - Отчетете епруветките в гама брояч за 60 секунди.

XI. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

- Изчислете средното аритметично на резултатите, получени от две по две епруветките.
- На полулогаритмична или линейна диаграма върху графична хартия нанесете (на ординатата) броят на минута за всеки калибратор (общ брой импулси в минута) спрямо (на абсцисата) съответната концентрация на СА 125 и начертайте калибрационна крива през калибрационните точки като не включвате точките, които очевидно не принадлежат към тази крива.
- Прочетете концентрациите за всяка контрола и проба чрез интерполиране върху калибрационната крива.
- Тези изчисления могат да се улеснят чрез асистирано редуциране на данните посредством компютър. Ако се използва автоматична обработка на резултатите, се препоръчва прилагането на 4-параметрова логистична функционална крива.

XII. ХАРАКТЕРНИ ДАННИ

Данните, изложени по-долу са само за илюстрация и никога не бива да се използват вместо истинската калибрационна крива.

СА 125-IRMA		срт	В/Т (%)
Общ брой		296905	100
Калибратор	0,0 U/ml	252	0,08
	4,8 U/ml	1081	0,36
	15,6 U/ml	2547	0,86
	60,0 U/ml	10515	3,54
	214,5 U/ml	38004	12,80
	786,0 U/ml	123494	41,59

Тъй като за туморния маркер СА 125 няма наличен международен референтен материал, то стойностите на калибратора DfAsource СА 125-IRMA се определят на базата на редица вътрешни референтни стандарти.

XIII. ИЗПЪЛНЕНИЕ И ОГРАНИЧЕНИЯ

A. Определен лимит

Дванадесет нулеви калибратора са били изпитани заедно с комплект от други калибратори. Определения лимит, дефиниран като явната концентрация на две стандартни отклонения над средния брой при нулево свързване, е бил 0,7 U/ml.

B. Прецизност

ПО ВРЕМЕ НА ИЗПИТВАНЕТО МЕЖДУ ИЗПИТВАНЕТО

Серум	N	<X>±S.D. U/ml	CV (%)	Серум	N	<X>±S.D. U/ml	CV (%)
A	20	31,5 ± 1,2	3,9	A	20	38,0 ± 2,0	5,3
B	20	120,8 ± 2,8	2,3	B	20	114,5 ± 5,7	5,0

C. Точност

ТЕСТ С РАЗРЕЖДАНЕ			
Проба	Разреждане	Теоретична концентрация (U/ml)	Измерена концентрация (U/ml)
A	1/1	-	618,8
	1/2	309,4	310,7
	1/4	154,7	161,4
	1/8	77,4	80,9
	1/16	38,7	43,2
	1/32	19,3	21,6
	1/64	9,7	10,3

Пробите са били разредени с нулев калибратор.

ВЪЗСТАНОВИТЕЛЕН ТЕСТ		
Добавен СА 125 (U/ml)	Възстановен СА 125 (U/ml)	Възстановяване (%)
31,1	35,5	114 %
65,8	67,7	103 %
124,3	135,7	109 %
257,9	268,9	104 %
531,8	552,4	104 %

D. Закъснение между разпределянето на последния калибратор и пробите

Както е показано по-долу, резултатите от изпитването остават точни дори когато пробата е разпределена 30 минути след като калибраторът е бил добавен към покритата епруветка.

ЗАКЪСНЕНИЕ				
	0'	10'	20'	30'
C 1 (U/ml)	35,9	37,2	39,3	38,5
C 2 (U/ml)	104,5	113,5	117,7	116,6

E. Ефект на кукичката

Пробите, съдържащи 340.000 U/ml СА125 дават резултат, по-висок от последната калибрационна стойност.

F. Специфичност

DfAsource СА 125 IRMA е базиран на две моноклонални антитела на мишки, OvK95 и Ov185, прицелени към два отделни епитопа на коровия протеин на антигена СА 125.

XIV. ОГРАНИЧЕНИЯ

- Проби от пациенти, които са приели препарати от миши моноклонални антитела за диагностика или лечение, могат да съдържат човешки анти-миши антитела (НАМА). Тези проби могат да покажат или фалшиво повишени, или намалени стойности, когато се тестват с китове, които използват миши моноклонални антитела.
- Хетерофилните антитела в човешкия серум могат да реагират с реагентните имуноглобулини, смущавайки ин витро имунотестовете. Пациенти, рутинно изложени на животни или на продукти от животински серум, могат да бъдат предразположени към тези смущения и могат да се наблюдават аномални стойности в случай на наличие на хетерофилни антитела. Внимателно преценявайте резултатите на пациенти, за които има подозрения, че имат от тези антитела. Ако резултатите не са съвместими с други клинични наблюдения, ще се изисква допълнителна информация преди поставяне на диагноза.

XV. ВЪТРЕШЕН КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

- Ако резултатите, получени за Контрола 1 и/или Контрола 2 не са в рамките на нивото, указано на етикета на флакона, то резултатите не могат да бъдат използвани, освен ако не се предостави задоволително обяснение на това несъответствие.
- По желание, всяка лаборатория може да си направи собствен комплект от контролни проби, които трябва да се съхраняват замразени в кратни съотношения.
- Критериите за приемане на разликата от двойните резултати на пробите трябва да се опират на Добрата Лабораторна Практика.

XVI. РЕФЕРЕНТНИ ИНТЕРВАЛИ

98% от резултатите на 154 очевидно здрави индивида бяха под 35.0 U/ml. **За диагностични цели резултатите, получавани на базата на това изследване трябва винаги да се използват в комбинация с клинични изследвания, медицинската история на пациента и други находки.**

XVII. ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Безопасност

Само за *in vitro* диагностика.
Този набор съдържа ¹²⁵I (полуживот: 60 дни), емитиращ йонизиращи X (28 keV) и γ (35,5 keV) лъчения.
Този радиоактивен продукт може да се пренася и да се използва само от оторизирани лица; покупката, съхранението, употребата и размяната на

радиоактивни продукти са предмет на законодателството на държавата, на крайния потребител. Този продукт не бива в никакъв случай да се прилага на хора или животни.

Боравенето с радиоактивния продукт трябва да се извършва в определена за целта територия, далеч от регулярни зони на преминаване. В лабораторията трябва да се поддържа дневник за получаването и съхранението на радиоактивни материали. Лабораторната екипировка и стъклария, които могат да бъдат контаминирани с радиоактивни субстанции, трябва да бъдат отделени с цел да се избегне кръстосана контаминация с различни радионуклиди.

Всякакви радиоактивни пръски трябва да се почистват незабавно в съответствие с процедурите за радиационна безопасност. Радиоактивните отпадъци трябва да се изхвърлят, следвайки местните наредби и ръководства на властите, упражняващи юрисдикцията, над лабораториите. Придържането към основните правила за радиационна безопасност осигуряват адекватна защита.

Човешките кръвни компоненти, включени в кита, са били тествани чрез одобрени от Европейски и/или FDA (Американска агенция по храните и лекарствата) методи и са дали отрицателен резултат за HbsAg, анти-HCV, анти-HIV-1 и 2. Няма известен метод, който да дава пълна гаранция за това, че човешките кръвни деривати не пренасят хепатит, СПИН или други инфекции. Ето защо, боравенето със реагентите, серумните или плазмените проби трябва да бъде в съответствие с местните процедури по безопасност.

Всички животински продукти и деривати са били събирани от здрави животни. Волските компоненти са с произход от страни, където BSE (волска серумна енцефалопатия) не е била установявана. Независимо от това, компонентите, съдържащи животински субстанции трябва да се третират като потенциално инфекциозни.

Избягвайте каквото и да било кожен контакт с реагентите (съдържат натриев азид като консервант). Азидът в този кит може да реагира с оловото и медта във водопроводните инсталации като по този начин се получават силно експлозивни метални азиди. По време на измивния етап, промийте със силна и обилна струя вода канализацията, за да избегнете формирането на азиди.

Не пушете, не пийте, не яжте и не си слагайте козметика в работната територия. Не пилетирайте с уста. Използвайте защитно облекло и ръкавици за еднократна употреба.

XVIII. БИБЛИОГРАФИЯ

1.

BAST R., FEENEY M., LAZARUS H., NADLER L., COLVIN R., KNAPP R.
Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma.
J Clin Invest 1981;68:1331-1337.

2.

O'BRIEN T., RAYMOND L., BANNON G., FORD D., HARDARDOTTIR H., MILLER F., QUIRK J..
New monoclonal antibodies identify the glycoprotein carrying the CA 125 epitope.
Am J Obstet Gynecol 1991;165:1857-1864.

3.

BAST RC Jr., XU FJ., YU YH., BARNHILL S., ZHANG Z., MILSS GB.
CA 125 : The past and the future.
Int J Biol Markers 1998;13:179-187.

4.

BONFRER JMG., DUFFY MJ., RADTKE M., SEGURADO O., TORRE GC., VAN DALEN A., et al.
Tumor markers in glycological cancers : EGTM recommendations.
Anticancer Res 1999;19:2807-2810.

5.

NIH CONSENSUS DEVELOPMENTAL PANEL ON OVARIAN CANCER : NIH CONSENSUS CONFERENCE.
Ovarian cancer : screening, treatment and follow-up.
JAMA 1995;273:491-497.

6.

PETIGNAT P., JORIS F., OBRIST R.
How CA 125 is used in routine clinical pratice.
Eur J Cancer 2000;36:1933-1937.

7.

VON SCHLIPPE M., RUSTIN GJ.
Circulating tumor markers in ovarian tumors.
Forum (Genova) 2000;10:383-392.

8.

COLAKOVIC S., LUKIC V., MITROVIC L., JELIC S., SUSNJAR S.,MARINKOVIC J.
Prognostic value of CA 125 kinetics and half-life in advanced ovarian cancer.
Int J Biol Markers 2000;15:147-152.

XIX. ОБОБЩЕНИЕ НА ПРОТОКОЛА

	ОБЩА АКТИВНОСТ µl	КАЛИБРАТОРИ µl	ПРОБА (II) КОНТРОЛИ µl
Калибратори (0-5) Проби, контроли Инкубационен буфер	- - -	100 - 50	- 100 50
Инкубация	120 минути при стайна температура с разклащане 400 оборота в минута		
Сепарация Измиващ разтвор Сепарация Измиващ разтвор Сепарация	- - - - -	аспирирайте (или прелейте) 2 ml аспирирайте (или прелейте) 2 ml аспирирайте (или прелейте)	
Трейсър	100	100	100
Инкубация	60 минути при стайна температура с разклащане 400 оборота в минута		
Сепарация Измиващ разтвор Сепарация Измиващ разтвор Сепарация	-	аспирирайте (или прелейте) 2 ml аспирирайте (или прелейте) 2 ml аспирирайте (или прелейте)	
Броене	Отчетете епруветките за 60 секунди		

DIAsource каталог номер: KIP 0301	P.I. номер: 1700867/bu	Номер на ревизия: 101029/1
--------------------------------------	---------------------------	-------------------------------

Дата на ревизия: 2010-10-29

Διαβάστε ολόκληρο το πρωτόκολλο πριν από τη χρήση.

CA 125-IRMA

I. ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Κιτ ανοσοραδιομετρικής εξέτασης για τον in vitro ποσοτικό προσδιορισμό στον ορό του αντιγόνου (CA 125) που σχετίζεται με τον καρκίνο.

II. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

- A. Εμπορική ονομασία:** Κιτ CA 125-IRMA της DIAsource
- B. Αριθμός καταλόγου:** KIP0301: 96 εξετάσεις
- Γ. Κατασκευάζεται από την:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgium.

Για τεχνική βοήθεια ή πληροφορίες σχετικά με παραγγελίες επικοινωνήστε στα:
Τηλ.: +32 (0)67 88.99.99 Fax: +32 (0)67 88.99.96

III. ΚΛΙΝΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

A Βιολογικές δράσεις

Το CA 125 είναι μια γλυκοπρωτεΐνη τύπου βλεννίνης, υψηλού μοριακού βάρους, η οποία αρχικώς ορίστηκε από το μονοκλωνικό αντίσωμα (Mab) Oc 125 που καθιερώθηκε από τον Bast και άλλους. Διαφορετικοί επίτοποι, οι οποίοι συνεκφράζονται με τον επίτοπο Oc 125 στο αντιγόνο CA 125, έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη ετερόλογων προσδιορισμών για εντοπισμό του αντιγόνου CA 125.

B. Κλινική εφαρμογή

Περίπου το 90% των καρκίνων των ωοθηκών είναι καρκινώματα του επιθηλίου του σπλαχνικού κοιλώματος και περιλαμβάνουν μια σχετική με το επιθήλιο του σπλαχνικού κοιλώματος γλυκοπρωτεΐνη που ονομάζεται CA 125. Το CA 125 μπορεί να εντοπιστεί στα περισσότερα ορώδη, ενδομητριοειδή και διαυγών κυττάρων καρκινώματα των ωοθηκών, ενώ αυτό το αντιγόνο εκφράζεται λιγότερο συχνά σε βλεννώδεις όγκους. Το CA 125 βρίσκεται επίσης στο επιθήλιο των σαλπίγγων, στο ενδομήτριο και στον τράχηλο της μήτρας. Αυξημένα επίπεδα CA 125 ενδέχεται επίσης να είναι το αποτέλεσμα άλλων νόσων εκτός του καρκίνου των ωοθηκών. Παρότι το CA 125 είναι κατά κανόνα αυξημένο σε ασθενείς με καρκίνο του επιθηλίου των ωοθηκών, μπορεί να εκφραστεί σε έναν αριθμό γυναικολογικών (π.χ. του ενδομητρίου, της σάλπιγγας) και μη γυναικολογικών καρκίνων (π.χ. του παγκρέατος, του μαστού, του κόλου, του πνεύμονα). Τα επίπεδα του CA 125 αυξάνονται συχνά με τη διασπορά του όγκου πέρα από τη μήτρα.

IV. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

H DIIAsource CA 125-IRMA είναι μια ανοσοραδιομετρική εξέταση δύο βημάτων που βασίζεται στο διαχωρισμό σε επιστρωμένο σωληνάριο. Τα Mabs1, τα αντισώματα σύλληψης, προσκολλώνται στην κάτω και εσωτερική επιφάνεια του πλαστικού σωληναρίου. Προσθέστε του βαθμονομητές ή τα δείγματα στα σωληνάρια. Έπειτα από την επώαση, η πλύση αποβάλλει την πιθανή περίσσεια αντιγόνου. Προσθήκη Mab2, του αντισώματος σηματοδότησης που είναι σημασμένο με ¹²⁵I, θα ολοκληρώσει το σύστημα και θα πυροδοτήσει την ανοσολογική αντίδραση. Μετά την πλύση, η υπολειπόμενη ραδιενέργεια, που είναι δεσμευμένη στο σωληνάριο, αντανακλά τη συγκέντρωση του αντιγόνου.

V. ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Αντιδραστήρια	Κιτ 96 εξετάσεων	Χρωματικό ς κωδικός	Ανασύσταση
Σωληνάρια επιστρωμένα με anti CA 125 (μονοκλωνικά αντισώματα)	2 x 48	πορτοκαλί	Έτοιμο για χρήση
Ab ¹²⁵I ΙΧΝΗΘΕΤΗΣ: Αντι-CA 125 (μονοκλωνικά αντισώματα) σημασμένα με ¹²⁵Ιωδίνη σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με βόεια ορολευκωματίνη, βόειο ορό, αζίδιο (<0,1%) και μια αδρανής κόκκινη χρωστική	1 φιαλίδιο 10,5 ml 760 kBq	κόκκινο	Έτοιμο για χρήση
CAL 0 Μηδενικός βαθμονομητής σε βόειο ορό με θυμόλη	1 φιαλίδιο λυοφιλοποιημ ένο	κίτρινο	Προσθέστε 3,0 ml απεσταγμένου νερού
CAL N Βαθμονομητής N = 1 έως 5 (δείτε τις ακριβείς τιμές πάνω στις ετικέτες των φιαλιδίων) σε βόειο ορό και θυμόλη	5 φιαλίδια λυοφιλοποιημ ένο	κίτρινο	Προσθέστε 1,0 ml απεσταγμένου νερού
INC BUF Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης: Ρυθμιστικό διάλυμα Tris-μηλικών με βόεια ορολευκωματίνη, βόειο ορό και αζίδιο (<0,1%)	2 φιαλίδια 3 ml	Μαύρο	Έτοιμο για χρήση
WASH SOLN CONC Διάλυμα πλύσης (Tris-HCl)	2 φιαλίδια 10 ml	καφέ	Αραιώστε 70 x με απεσταγμένο νερό (χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα).
CONTROL N Υλικά ελέγχου - N = 1 ή 2 σε ανθρώπινο ορό με θυμόλη	2 φιαλίδια λυοφιλοποιημ ένο	ασημί	Προσθέστε 1,0 ml απεσταγμένου νερού

Σημείωση: Χρησιμοποιείτε το μηδενικό βαθμονομητή για αραιώσεις δειγμάτων.

VI. ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Τα ακόλουθα υλικά απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται στο κιτ:

- Απεσταγμένο νερό
- Πιπέτες για διανομή: 50 µl, 100 µl, 1 ml και 3 ml (συνιστάται η χρήση πιπετών ακριβείας με αναλώσιμα πλαστικά ρύγχη)
- Πιπέτες για διανομή από 1 έως 5 ml απεσταγμένου νερού
- Αναμεικτής στροβιλισμού
- Μαγνητικός αναδευτήρας
- Συσκευή ανάδευσης σωληναρίων (400rpm)
- Αυτόματη σύριγγα των 5 ml (τύπου Cornwall) για πλύση
- Σύστημα αναρρόφησης (προαιρετικό)
- Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοσδήποτε απαριθμητής ακτίνων γ με δυνατότητα μέτρησης του ¹²⁵I (ελάχιστη απόδοση 70%).

VII. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

- A. Βαθμονομητές:** Πραγματοποιήστε την ανασύσταση του μηδενικού βαθμονομητή με 3 ml απεσταγμένου νερού και των βαθμονομητών 1-5 με 1 ml.
- B. Υλικά ελέγχου:** Ανασυστήστε τα υλικά ελέγχου με 1 ml απεσταγμένου νερού.
- Γ. Διάλυμα πλύσης εργασίας:** Προετοιμάστε επαρκή όγκο διαλύματος πλύσης εργασίας με προσθήκη 69 όγκων απεσταγμένου νερού σε 1 όγκο διαλύματος πλύσης (70x). Χρησιμοποιήστε μαγνητικό αναδευτήρα για την ομογενοποίηση. Απορρίψτε το μη χρησιμοποιημένο διάλυμα πλύσης εργασίας στο τέλος της ημέρας.

VIII. ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΛΗΞΗΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

- Πριν από το άνοιγμα ή την ανασύσταση, όλα τα συστατικά του κιτ παραμένουν σταθερά έως την ημερομηνία λήξης, η οποία αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλιδίου, εφόσον διατηρούνται σε θερμοκρασία 2 έως 8° C.
- Οι βαθμονομητές και οι οροί ελέγχου είναι πολύ ασταθείς. Χρησιμοποιήστε τους αμέσως μετά από την ανασύσταση, ψύξτε αμέσως σε κλάσματα και διατηρείστε σε -20°C για 3 μήνες.
- Φρέσκο, παρασκευασμένο διάλυμα πλύσης εργασίας θα πρέπει να χρησιμοποιείται την ίδια ημέρα.
- Μετά την πρώτη χρήση του, ο ιχνηθέτης παραμένει σταθερός έως την ημερομηνία λήξης, εφόσον διατηρείται στο αρχικό, ερμητικά κλειστό φιαλίδιο σε θερμοκρασία 2 έως 8° C.
- Τυχόν μεταβολές της φυσικής εμφάνισης των αντιδραστηρίων του κιτ ενδέχεται να υποδηλώνουν αστάθεια ή αλλοίωση.

IX. ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- Ο ορός πρέπει να φυλάσσεται σε θερμοκρασία 2-8° C.
- Εάν η εξέταση δεν πραγματοποιηθεί εντός 24 ωρών, συνιστάται η φύλαξη στους -20° C.
- Αποφεύγετε τους επακόλουθους κύκλους κατάψυξης-απόψυξης.

X. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

- A. Σημειώσεις σχετικά με το χειρισμό**
Μη χρησιμοποιείτε το κιτ ή τα συστατικά μετά την ημερομηνία λήξης. Μην αναμειγνύετε υλικά από διαφορετικές παρτίδες κιτ. Φέρετε όλα τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Αναμείξτε καλά όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα με απαλή ανακίνηση ή ανάδευση. Χρησιμοποιείτε ένα καθαρό αναλώσιμο ρύγχος πιπέτας για την προσθήκη κάθε διαφορετικού αντιδραστηρίου και δείγματος προκειμένου να αποφύγετε την επιμόλυνση. Η ακρίβεια βελτιώνεται με χρήση πιπετών υψηλής ακρίβειας ή αυτοματοποιημένου εξοπλισμού διανομής με πιπέτες. Τηρείτε τους χρόνους επώασης. Προετοιμάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης για κάθε ανάλυση και μη χρησιμοποιείτε δεδομένα από προηγούμενες αναλύσεις.

- B. Διαδικασία**
- Σημάνετε τα επιστρωμένα σωληνάρια εις διπλούν για κάθε βαθμονομητή, δείγμα, υλικό ελέγχου. Για τον προσδιορισμό των συνολικών μετρήσεων, σημάνετε 2 φυσιολογικά σωληνάρια.
 - Στροβιλίστε για λίγο βαθμονομητές, δείγματα και υλικά ελέγχου και διανείμετε 100 µl από έκαστο σε αντίστοιχα σωληνάρια.
 - Διανείμετε 50 µl από το ρυθμιστικό διάλυμα επώασης σε κάθε σωληνάριο, εκτός από εκείνα που αφορούν τις μετρήσεις του ιχνηθέτη ("total").
 - Επώαστε επί 120 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου σε αναδευτήρα σωληναρίων στις 400 rpm.
 - Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις συνολικές μετρήσεις). Βεβαιωθείτε ότι το πλαστικό ρύγχος του αναρροφητή φθάνει στον πυθμένα του επιστρωμένου σωληναρίου προκειμένου να αφαιρεθεί όλη η ποσότητα του υγρού.
 - Πλύνετε τα σωληνάρια με 2 ml διαλύματος πλύσης εργασίας (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις συνολικές μετρήσεις). Αποφύγετε το σχηματισμό αφρού κατά τη διάρκεια της προσθήκης του διαλύματος πλύσης εργασίας.
 - Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις συνολικές μετρήσεις).
 - Πλύνετε τα σωληνάρια και πάλι με 2 ml διαλύματος πλύσης εργασίας (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις συνολικές μετρήσεις) και αναρροφήστε (ή μεταγγίστε).
 - Μετά την τελευταία πλύση, αφήστε τα σωληνάρια να σταθούν σε όρθια θέση για δύο λεπτά και αναρροφήστε τη σταγόνα υγρού που απομένει.

10. Διανείμετε 100 μl ιχνηθέτη σε κάθε σωληνάριο, συμπεριλαμβανοντας τα μη επιστρωμένα σωληνάρια για τις μετρήσεις του ιχνηθέτη 125I ("total").
11. Επωάστε επί 60 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου σε αναδευτήρα σωληναρίων στις 400 rpm.
12. Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις συνολικές μετρήσεις). Βεβαιωθείτε ότι το πλαστικό ρύγχος του αναρροφητή φθάνει στον πυθμένα του επιστρωμένου σωληναρίου προκειμένου να αφαιρεθεί όλη η ποσότητα του υγρού.
13. Πλύνετε τα σωληνάρια με 2 ml διαλύματος πλύσης εργασίας (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις συνολικές μετρήσεις). Αποφύγετε το σχηματισμό αφρού κατά τη διάρκεια της προσθήκης του διαλύματος πλύσης εργασίας.
14. Αναρροφήστε (ή μεταγγίστε) το περιεχόμενο κάθε σωληναρίου (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις συνολικές μετρήσεις).
15. Πλύνετε τα σωληνάρια και πάλι με 2 ml διαλύματος πλύσης εργασίας (με εξαίρεση εκείνα που αφορούν τις συνολικές μετρήσεις) και αναρροφήστε (ή μεταγγίστε).
16. Μετά την τελευταία πλύση, αφήστε τα σωληνάρια να σταθούν σε όρθια θέση για δύο λεπτά και αναρροφήστε τη σταγόνα υγρού που απομένει.
17. Υποβάλλετε σε μέτρηση τα σωληνάρια σε απαριθμητή ακτίνων γ για 60 δευτερόλεπτα.

XI. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

1. Υπολογίστε τη μέση τιμή των διπλών προσδιορισμών.
2. Σε ημιλογαριθμικό ή γραμμικό χαρτί γραφημάτων, παραστήστε γραφικά τις c.p.m. (κρούσεις ανά λεπτό) (τεταγμένη) για κάθε βαθμονομητή έναντι της αντίστοιχης συγκέντρωσης της CA 125 (τεταγμένη) και σχεδιάστε μια καμπύλη βαθμονόμησης μέσω των σημείων του βαθμονομητή, απορρίπτε τις εμφανείς μη αποδεκτές τιμές.
3. Διαβάστε τη συγκέντρωση για κάθε υλικό ελέγχου και δείγμα με παρεμβολή στην καμπύλη βαθμονόμησης.
4. Αναγωγή δεδομένων με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή θα απλοποιήσει αυτούς τους υπολογισμούς. Εάν χρησιμοποιείται αυτόματη επεξεργασία αποτελεσμάτων, συνιστάται προσαρμογή καμπύλης λογιστικής συνάρτησης 4 παραμέτρων.

XII. ΤΥΠΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Τα ακόλουθα δεδομένα προορίζονται μόνο ως επεξήγηση και δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ποτέ αντί της καμπύλης βαθμονόμησης πραγματικού χρόνου.

CA 125-IRMA		cpm	B/T (%)
Συνολική μέτρηση		296905	100
Βαθμονομητής	0,0 U/ml	252	0,08
	4,8 U/ml	1081	0,36
	15,6 U/ml	2547	0,86
	60,0 U/ml	10515	3,54
	214,5 U/ml	38004	12,80
	786,0 U/ml	123494	41,59

Δεδομένου του ότι δεν υπάρχει διαθέσιμο υλικό διεθνούς αναφοράς για το αντιγόνο CA 125, οι τιμές των βαθμονομητών DfAsource CA 125-IRMA προσδιορίζονται έναντι ενός εσωτερικού σετ προτύπων αναφοράς.

XIII. ΑΠΟΛΟΣΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

A. Όριο ανίχνευσης

Υποβλήθηκαν σε προσδιορισμό είκοσι μηδενικοί βαθμονομητές μαζί με ένα σύνολο άλλων βαθμονομητών. Το όριο ανίχνευσης, οριζόμενο ως η φαινομενική συγκέντρωση δύο τυπικών αποκλίσεων πάνω από τις μέσες μετρήσεις σε μηδενική δέσμευση, ήταν 0,7 U/ml.

B. Ειδικότητα

Ο προσδιορισμός DfAsource CA 125 IRMA βασίζεται σε δύο μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού, το OnK95 και το On185, που κατευθύνονται ενάντια σε δύο ανεξάρτητους επιτόπους του πρωτεϊνικού πυρήνα του αντιγόνου CA 125.

Γ. Ακρίβεια

ΓΙΑ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ				ΜΕΤΑΞΥ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΩΝ			
Ορός	N	<X> ± T.A. (U/ml)	Σ.Δ. (%)	Ορός	N	<X> ± T.A. (U/ml)	Σ.Δ. (%)
A	20	31,5 ± 1,2	3,9	A	20	38,0 ± 2,0	5,3
B	20	120,8 ± 2,8	2,3	B	20	114,5 ± 5,7	5,0

T.A.: Τυπική απόκλιση, Σ.Δ.: Συντελεστής διακύμανσης

Δ. Ορθότητα

ΕΞΕΤΑΣΗ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ		
Προσθεθείσα CA 125 (U/ml)	Ανακτηθείσα CA 125 (U/ml)	Ανάκτηση (%)
31,1	35,5	114 %
65,8	67,7	103 %
124,2	135,7	109 %
257,9	268,9	104 %
531,8	552,4	104 %

ΕΞΕΤΑΣΗ ΑΡΑΙΩΣΗΣ			
Δείγμα	Αραίωση	Θεωρητική συγκέντρωση (U/ml)	Μετρηθείσα συγκέντρωση (U/ml)
A	1/1	-	618,8
	1/2	309,4	310,7
	1/4	154,7	161,4
	1/8	77,4	80,9
	1/16	38,7	43,2
	1/32	19,3	21,6
	1/64	9,7	10,3

Τα δείγματα αραιώθηκαν με μηδενικό βαθμονομητή.

Ε. Μεσοδιάστημα μεταξύ της διανομής τελευταίου βαθμονομητή και δείγματος

Όπως φαίνεται στη συνέχεια, τα αποτελέσματα του προσδιορισμού παραμένουν ορθά ακόμα και όταν διανέμεται ένα δείγμα 30 λεπτά μετά την προσθήκη των βαθμονομητών στα επιστρωμένα σωληνάρια.

ΜΕΣΟΔΙΑΣΤΗΜΑ				
	0'	10'	20'	30'
S 1 (U/ml)	35,9	37,2	39,3	38,5
S 2 (U/ml)	104,5	113,5	117,7	116,6

ΣΤ. Φαινόμενο αγκίστρου (hook)

Δείγματα που περιέχουν 340.000 U/ml CA 125 δίνουν ένα αποτέλεσμα υψηλότερο από το τελευταίο σημείο βαθμονόμησης.

XIV. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- Δείγματα από ασθενείς που έχουν λάβει παρασκευάσματα μονοκλωνικών αντισωμάτων ποντικού για σκοπούς διάγνωσης ή θεραπείας, ενδεχομένως να περιέχουν ανθρώπινα αντισώματα αντι-ποντικού (HAMA). Σε αυτά τα δείγματα μπορούν να παρατηρηθούν ψευδώς αυξημένες ή ψευδώς μειωμένες τιμές, όταν ελέγχονται με kit προσδιορισμού που χρησιμοποιούν μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού.
- Τα ετεροφιλικά αντισώματα στον ανθρώπινο ορό μπορούν να αντιδράσουν με ανοσοσφαιρίνες των αντιδραστηρίων, προκαλώντας παρεμβολή σε in vitro ανοσοπροσδιορισμούς. Ασθενείς που εκτίθενται τακτικά σε ζώα ή προϊόντα ζωικού ορού ενδεχομένως να είναι επιρρεπείς σε αυτήν την παρεμβολή. Παθολογικές τιμές μπορούν να παρατηρηθούν σε παρουσία ετεροφιλικών αντισωμάτων. Αξιολογείτε με προσοχή τα αποτελέσματα ασθενών, στους οποίους υπάρχει υποψία αυτών των αντισωμάτων. Εάν τα αποτελέσματα δεν είναι σύμφωνα με άλλες κλινικές παρατηρήσεις, θα χρειαστεί η λήψη περαιτέρω πληροφοριών πριν από τη θέση της διάγνωσης.

XV. ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

- Εάν τα αποτελέσματα που λαμβάνονται για το υλικό ελέγχου 1 ή/και το υλικό ελέγχου 2 δε βρίσκονται εντός του πεδίου τιμών που καθορίζεται στην ετικέτα του φιαλιδίου, τα αποτελέσματα δεν είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν, εκτός εάν έχει δοθεί ικανοποιητική εξήγηση για την ασυμφωνία.
- Εάν είναι επιθυμητό, κάθε εργαστήριο μπορεί να δημιουργήσει τα δικά του μείγματα δειγμάτων ελέγχου, τα οποία πρέπει να διατηρούνται κατεψυγμένα σε κλάσματα. Μην καταψύχετε-αποψύχετε περισσότερο από δύο φορές.
- Τα κριτήρια αποδοχής για τη διαφορά μεταξύ των διπλών αποτελεσμάτων των δειγμάτων θα πρέπει να βασίζονται σε ορθές εργαστηριακές πρακτικές.

XVI. ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Μεταξύ 154 φανερά υγιών ατόμων, 98% των αποτελεσμάτων ήταν κάτω των 35,0 U/ml.

Για διαγνωστικούς σκοπούς, τα αποτελέσματα που λαμβάνονται από αυτόν τον προσδιορισμό θα πρέπει να χρησιμοποιούνται πάντα σε συνδυασμό με την κλινική εξέταση, το ιατρικό ιστορικό του ασθενούς και άλλα ευρήματα.

XVII. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

Ασφάλεια

Μόνο για διαγνωστική χρήση in vitro.
Το kit αυτό περιέχει το ¹²⁵I (Χρόνος ημιζωής: 60 ημέρες), μια ραδιενεργή ουσία η οποία εκπέμπει ιονίζουσα ακτινοβολία Χ (28 keV) και γ (35.5 keV). Αυτό το ραδιενεργό προϊόν είναι δυνατό να μεταφερθεί και να χρησιμοποιηθεί μόνο από εξουσιοδοτημένα άτομα. Η αγορά, φύλαξη, χρήση και ανταλλαγή ραδιενεργών προϊόντων υπόκεινται στη νομοθεσία της χώρας του τελικού χρήστη. Σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να χορηγείται το προϊόν σε ανθρώπους ή ζώα.

Όλος ο χειρισμός του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να εκτελείται σε καθορισμένο χώρο, μακριά από χώρους τακτικής διέλευσης. Στο εργαστήριο πρέπει να διατηρείται ημερολόγιο για την παραλαβή και τη φύλαξη ραδιενεργών υλικών. Εξοπλισμός και γυάλινα σκεύη του εργαστηρίου, τα οποία θα μπορούσαν να μολυνθούν με ραδιενεργές ουσίες, θα πρέπει να φυλάσσονται σε ξεχωριστό χώρο για την πρόληψη επιμόλυνσης των διαφόρων ραδιοϊσότοπων. Τυχόν διαρροές ραδιενεργών υγρών πρέπει να καθαρίζονται αμέσως σύμφωνα με τις διαδικασίες ασφάλειας από ραδιενέργεια. Τα ραδιενεργά απόβλητα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς και τις κατευθυντήριες οδηγίες των αρχών που έχουν δικαιοδοσία στο εργαστήριο. Ηήρηση των βασικών κανόνων ασφάλειας από ραδιενέργεια παρέχει επαρκή προστασία.

Τα συστατικά ανθρώπινου αίματος που περιλαμβάνονται στο kit αυτό έχουν ελεγχθεί με μεθόδους εγκεκριμένες στην Ευρώπη ή/και από τον FDA και έχει διαπιστωθεί ότι είναι αρνητικά ως προς την παρουσία HBsAg, αντι-HCV, αντι-HIV-1 και 2. Καμία γνωστή μέθοδος δεν είναι δυνατό να παρέχει πλήρη διασφάλιση ότι παράγωγα του ανθρώπινου αίματος δε θα μεταδώσουν ηπατίτιδα, AIDS ή άλλες λοιμώξεις. Επομένως, ο χειρισμός αντιδραστηρίων, δειγμάτων ορού ή πλάσματος θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες περί ασφάλειας.

Όλα τα ζωικά προϊόντα και παράγωγα έχουν συλλεχθεί από υγιή ζώα. Τα βόεια συστατικά προέρχονται από χώρες όπου δεν έχει αναφερθεί BSE. Παρ' όλ' αυτά, συστατικά που περιέχουν ζωικές ουσίες θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά.

Αποφεύγετε οποιαδήποτε επαφή του δέρματος με αντιδραστήρια (χρησιμοποιείται αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό). Το αζίδιο στο kit αυτό ενδέχεται να αντιδράσει με μολύβδο και χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων και να σχηματίσει με τον τρόπο αυτό ιδιαίτερα εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Κατά τη διάρκεια του βήματος πλύσης, εκπλύνετε την αποχέτευση με μεγάλη ποσότητα νερού, για την πρόληψη τυχόν συσώρευσης αζιδίου.

Μην καπνίζετε, μην πίνετε, μην τρώτε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά στο χώρο εργασίας. Μην διανέμετε με πιπέτα χρησιμοποιώντας το στόμα σας. Χρησιμοποιείτε προστατευτικό ρουχισμό και αναλώσιμα γάντια.

XVIII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. BAST R., FEENEY M., LAZARUS H., NADLER L., COLVIN R., KNAPP R.
Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma.
J Clin Invest 1981;68:1331-1337.
2. O'BRIEN T., RAYMOND L., BANNON G., FORD D., HARDARDOTTIR H., MILLER F., QUIRK J..
New monoclonal antibodies identify the glycoprotein carrying the CA 125 epitope.

Am J Obstet Gynecol 1991;165:1857-1864.

3. BAST RC Jr., XU FJ., YU YH., BARNHILL S., ZHANG Z., MILSS GB.
CA 125 : The past and the future.
Int J Biol Markers 1998;13:179-187.
4. BONFRER JMG., DUFFY MJ., RADTKE M., SEGURADO O., TORRE GC., VAN DALEN A., et al.
Tumor markers in glycological cancers : EGTm recommendations.
Anticancer Res 1999;19:2807-2810.
5. NIH CONSENSUS DEVELOPMENTAL PANEL ON OVARIAN CANCER :
NIH CONSENSUS CONFERENCE.
Ovarian cancer : screening, treatment and follow-up.
JAMA 1995;273:491-497.
6. PETIGNAT P., JORIS F., OBRIST R.
How CA 125 is used in routine clinical practice.
Eur J Cancer 2000;36:1933-1937.
7. VON SCHLIPPE M., RUSTIN GJ.
Circulating tumor markers in ovarian tumors.
Forum (Genova) 2000;10:383-392.
8. COLAKOVIC S., LUKIC V., MITROVIC L., JELIC S., SUSNJAR S.,MARINKOVIC J.
Prognostic value of CA 125 kinetics and half-life in advanced ovarian cancer.
Int J Biol Markers 2000;15:147-152.

XIX. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟΥ

	ΣΥΝΟΛΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ (μl)	ΒΑΘΜΟΝΟ ΜΗΤΕΣ (μl)	ΔΕΙΓΜΑ(ΤΑ) Υλικά ελέγχου (μl)
Βαθμονομητές (0-5)	-	100	-
Δείγματα, Υλικά ελέγχου	-	-	100
Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης	-	50	50
Επώαση	120 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου με ανάδευση στις 400 rpm		
Διαχωρισμός	-	Αναρρόφηση (ή μετάγγιση)	
Διάλυμα πλύσης	-	2,0 ml	
εργασίας	-	Αναρρόφηση (ή μετάγγιση)	
Διαχωρισμός	-	2,0 ml	
Διάλυμα πλύσης	-	Αναρρόφηση (ή μετάγγιση)	
εργασίας	-	2,0 ml	
Διαχωρισμός	-	Αναρρόφηση (ή μετάγγιση)	
Ιχνηθέτης	100	100	100
Επώαση	60 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου με ανάδευση στις 400 rpm		
Διαχωρισμός	-	Αναρρόφηση (ή μετάγγιση)	
Διάλυμα πλύσης	-	2,0 ml	
εργασίας	-	Αναρρόφηση (ή μετάγγιση)	
Διαχωρισμός	-	2,0 ml	
Διάλυμα πλύσης	-	Αναρρόφηση (ή μετάγγιση)	
εργασίας	-	2,0 ml	
Διαχωρισμός	-	Αναρρόφηση (ή μετάγγιση)	
Μέτρηση	Μέτρηση σωληναρίων επί 60 δευτερόλεπτα		

Αρ. καταλόγου DIASource: KIP0301	Αριθμός P.I.: 1700867/el	Αρ. αναθεώρησης: 101029/1
-------------------------------------	-----------------------------	------------------------------

Przed zastosowaniem należy przeczytać cały protokół.

CA 125-IRMA

I. PRZEZNACZENIE

Oznaczenie radioimmunologiczne do ilościowego pomiaru in vitro antygenu związanego z nowotworem CA 125 w surowicy.

II. INFORMACJE OGÓLNE

- A. **Nazwa firmowa:** DIAsource CA 125-IRMA Kit
- B. **Numer katalogowy:** KIP0301: 96 oznaczeń
- C. **Wyprodukowano przez:** DIAsource ImmunoAssays S.A.
Rue de l'Industrie, 8, B-1400 Nivelles, Belgia.

Dział pomocy technicznej oraz informacje dotyczące zamówień:

Tel: +32 (0)67 88.99.99

Fax: +32 (0)67 88.99.96

III. INFORMACJE KLINICZNE

A. Aktywność biologiczna

CA 125 jest glikoproteiną o wysokiej masie cząsteczkowej z rodzaju mucyn zdefiniowaną jako przeciwciało monoklonalne (Mab) Qc 125 przez Bast i wsp. Do opracowania heterologicznych oznaczeń przeznaczonych do określenia antygenu CA 125 wykorzystywano różne epitopy występujące razem z epitopem Qc 125 na antygenie CA 125.

B. Zastosowanie kliniczne

Okolo 90% występujących raków jajnika jest rakami pochodzenia mezodermalnego (tkanka nabłonkowa) i zawiera glikoproteiny związane z nabłonkiem pochodzenia mezodermalnego (celoma) oznaczone jako CA 125. CA 125 może występować w większości poważnych raków endometrioidalnych i jasnokomórkowych jajnika. Rzadziej antygen ten jest prezentowany w guzach śluzowych. CA 125 występuje również w nabłonkach jajowodów, endometrium i szyjki macicy.

Podwyższone poziomy CA 125 mogą występować w chorobach brzusznych innych niż rak jajnika. Chociaż CA 125 jest w większości podwyższony u pacjentów z nabłonkowym rakiem jajnika, może występować również w wielu nowotworach ginekologicznych (np.: w raku endometrium, jajowodu) i nieginekologicznych (np.: w rakach trzustki, sutka, okrężnicy i płuc). Poziomy CA 125 są często podwyższone w stanach rozsiewu nowotworu poza macicę.

IV. ZAGADNIENIA DOTYCZĄCE METODY

Test DIIAsource CA 125-IRMA jest dwuetapowym oznaczeniem radioimmunologicznym opartym na separacji w opłaszczonych probówkach. Mab1, pochwycone przeciwciała, są unieruchomione na dolnej wewnętrznej powierzchni plastikowej próbówki. Należy dodać kalibratory lub próbki do próbek. Po inkubacji w procesie płukania zostanie usunięty nadmiar antygenu. Dodanie Mab2, przeciwciała sygnałowego oznakowanego ¹²⁵I zakończy etap i wyzwoli reakcję immunologiczną. Po przepłukaniu, stopień radioaktywności związanej z próbówką odzwierciedla stężenie antygenu.

V. DOSTARCZONE ODCZYNNIKI

Odczynniki	Ilość 96 oznaczeń	Kolor	Rekonstytucja
Próbówki opłaszczone przeciwciałami anti-CA 125 (przeciwciała monoklonalne	2 x 48	pomarańczowy	Gotowe do zastosowania.
Ab^{125I} Przeciwciała monoklonalne anti-CA 125-¹²⁵I w buforze fosforanowym z albuminą z surowicy bydlęcej, azydkiem (<0,1%), surowicą bydlęcą i czerwonym barwnikiem obojętnym.	1 fiołka 10,5 ml 760 kBq	czerwony	Gotowe do zastosowania.
CAL0 Kalibratory 0 w surowicy bydlęcej z tymolem.	1 fiołka liofil.	żółty	Dodać 3 ml wody destylowanej
CALN Kalibratory 1 - 5 w surowicy bydlęcej z tymolem (dokładne wartości na etykietach fiolek)	5 fiolek liofil.	żółty	Dodać 1 ml wody destylowanej
INCBUF Bufor inkubacyjny: Bufor maleinianu Tris z albuminą z surowicy bydlęcej, surowicą bydlęcą i azydkiem.	2 fiołki 3 ml	czarny	Gotowe do zastosowania.
WASHSOLNCONC Roztwór płuczący (TRIS-HCl)	2 fiołki 10 ml	brązowy	Rozcieńczyć 70x wodą destylowaną (wykorzystać mieszadło magnetyczne).
CONTROLN Kontrolne 1 i 2 w surowicy pochodzenia ludzkiego z tymolem	2 fiołki liofil.	srebrny	Dodać 1 ml wody destylowanej

Uwaga: Do rozcieńczania próbek należy użyć kalibratora zerowego.

VI. MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE

Poniższe materiały są wymagane, ale nie są dostarczone w zestawie:

- 1. Woda destylowana
- 2. Pipety do dostarczenia objętości: 50 µl, 100 µl, 1 ml i 3 ml. (zaleca się stosowanie właściwych pipet z jednorazowymi końcówkami plastikowymi)
- 3. Pipeta do dostarczenia 1 - 5 ml wody destylowanej
- 4. Mieszadło wirowe
- 5. Mieszadło magnetyczne
- 6. Strzykawka automatyczna o objętości 5 ml (rodzaj Cornwall) do płukania
- 7. Układ do aspiracji (opcjonalnie)
- 8. Może być wykorzystywany jakikolwiek licznik gamma odpowiedni do pomiaru ¹²⁵I (minimalny uzysk 70%).

VII. PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

- A. **Kalibratory:** Rekonstruować kalibrator 0 przy pomocy 3 ml wody destylowanej a kalibratory 1 - 5 przy pomocy 1 ml.
- B. **Kontrolne:** Kontrolne należy rekonstruować przy pomocy 1 ml wody destylowanej.
- C. **Roboczy roztwór płuczający:** Właściwą objętość roboczego roztworu płuczającego należy przygotować dodając 69 objętości wody destylowanej do 1 objętości roztworu płuczającego (70x). Do homogenizacji należy wykorzystać mieszadło magnetyczne. Niewykorzystany roboczy roztwór płuczający należy wylać pod koniec dnia.

VIII. PRZECHOWYWANIE I DATA WAŻNOŚCI ODCZYNNIKÓW

- Przed otwarciem lub rekonstytucją wszystkie składniki zestawu zachowują trwałość do daty ważności przedstawionej na etykiecie, jeżeli są przechowywane w temperaturze od 2 do 8°C.
- Kalibratory i kontrolne są bardzo nietrwałe, dlatego należy po rekonstytucji natychmiast je wykorzystać, lub zamrozić w niewielkich objętościach w temperaturze -20°C przechowywać przez maksymalnie 3 miesiące. Unikać cykli rozmrażania i zamrażania.
- Świeżo przygotowany roboczy roztwór płuczający powinien być wykorzystany w tym samym dniu.
- Po jego pierwszym zastosowaniu, znacznik izotopowy zachowuje trwałość do podanej daty ważności jeżeli jest przechowywany w oryginalnej, dobrze zamkniętej fiołce w temperaturze od 2 do 8°C.
- Zmiany w wyglądzie fizycznym odczynników w zestawie mogą wskazywać na ich niestabilność lub zużycie.

IX. POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE MATERIAŁU DO BADANIA

- Próbkę surowicy muszą być przechowywane w temperaturze 2-8°C.
- Jeżeli oznaczenie nie jest wykonywane w ciągu 24 godzin, zaleca się przechowywanie w temperaturze -20°C.
- Unikać powtarzanych cykli zamrażania i rozmrażania.

X. PROCEDURA

- A. **Uwagi dotyczące obsługi**
Nie wolno wykorzystywać składników zestawu po upływie daty ważności. Nie wolno mieszać materiałów pochodzących z różnych serii zestawów. Przed wykorzystaniem wszystkie odczynniki powinny osiągnąć temperaturę pokojową.
Wszystkie odczynniki i próbki należy dokładnie wymieszać przez delikatne potrząsanie lub obracanie. Aby uniknąć zanieczyszczenia krzyżowego do dodawania poszczególnych odczynników i próbek należy wykorzystywać czyste, jednorazowe końcówki pipet. Pipety wysokiej precyzji lub pipety automatyczne poprawiają precyzję wykonania oznaczenia. Przestrzegać czasów inkubacji. Przygotować krzywą kalibracyjną dla każdego cyklu pomiarowego, nie wolno wykorzystywać danych z poprzednich oznaczeń.
- B. **Procedura**
 1. Dla każdego kalibratora, próbki i kontroli należy oznaczyć opłaszczone próbówki w badaniach podwójnych. W celu określenia całkowitych zliczeń należy oznaczyć 2 zwykłe próbówki
 2. Szybko wymieszać wirując: kalibratory, próbki i kontrole, i dozować po 100 µl każdej substancji do odpowiednich próbek.
 3. Dozować 50 µl buforu inkubacyjnego do każdej próbówki z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania.
 4. Inkubować przez 120 minut w temperaturze pokojowej na mieszadle wirowym (400 obrotów/min).
 5. Aspirować (lub odlać) zawartość każdej próbówki (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania). Aby usunąć cały płyn należy upewnić się, że plastikowa końcówka aspiratora osiągnęła dno opłaszczonej próbówki.
 6. Przepłukać próbówki przy pomocy 2 ml roboczego roztworu płuczającego (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania) i aspirować zawartość (lub odlać ją). W trakcie dodawania roboczego roztworu płuczającego należy unikać wytwarzania piany.
 7. Ponownie przepłukać próbówki przy pomocy 2 ml roztworu płuczającego (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania) i aspirować (lub odlać).
 8. Pozostawić próbówki w pozycji stojącej do góry na dwie minuty i aspirować pozostałe krople płynu.
 9. Dodać 100 µl anti-CA 125-¹²⁵I (znacznik izotopowy) do wszystkich próbek w tym do nieopłaszczonych próbek do całkowitego zliczania.
 10. Inkubować przez 60 minut w temperaturze pokojowej na mieszadle wirowym (400 obrotów/min).
 11. Aspirować (lub odlać) zawartość każdej próbówki (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania). Aby usunąć cały płyn należy upewnić się, że plastikowa końcówka aspiratora osiągnęła dno opłaszczonej próbówki.
 12. Przepłukać próbówki przy pomocy 2 ml roboczego roztworu płuczającego (z wyjątkiem próbek do całkowitego zliczania) i aspirować zawartość (lub odlać ją). W trakcie dodawania roboczego roztworu płuczającego należy unikać wytwarzania piany.

13. Ponownie przepłukać próbówki przy pomocy 2 ml roztworu płuczącego (z wyjątkiem próbówek do całkowitego zliczania) i аспиrować (lub odlać).
14. Pozostawić próbówki w pozycji stojącej do góry na dwie minuty i аспиrować pozostałe krople płynu.
15. Zliczać próbówki w liczniku gamma przez 60 sekund.

XI. OBLICZANIE WYNIKÓW

1. Obliczyć średnią oznaczeń podwójnych.
2. Na papierze milimetrowym lub w kratkę wykreślić c.p.m. (rzędna) dla każdego kalibratora wobec odpowiadającego stężenia CA 125 (odcięta) oraz wykreślić krzywą kalibracji przez punkty kalibratora, odrzucając oczywiste wartości odbiegające od linii środkowej.
3. Odczytać stężenie dla każdej kontroli i próbki przez naniesienie na krzywą kalibracyjną.
4. Redukcja danych przy pomocy komputera pozwoli uprościć te obliczenia. Jeżeli ma być zastosowane automatyczne przetwarzanie wyników, zaleca się dopasowanie krzywej logistycznej 4 parametrów.

XII. PRZYKŁAD DANYCH TYPOWYCH

Poniższe dane są przedstawione wyłącznie w celach przykładowych i nie powinny być nigdy stosowane zamiast rzeczywistych krzywych kalibracyjnych.

CA 125-IRMA		cpm	B/T x 100 (%)
Zliczanie całkowite		296905	100
Kalibrator	0,0 U/ml	252	0,08
	4,8 U/ml	1081	0,36
	15,6 U/ml	2547	0,86
	60,0 U/ml	10515	3,54
	214,5 U/ml	38004	12,80
	786,0 U/ml	123494	41,59

Ponieważ nie jest dostępny żaden międzynarodowy materiał referencyjny dla antygenu CA 125, wartości kalibratora DIAsource CA 125-IRMA są przedstawione zgodnie z wewnętrznymi standardami referencyjnymi.

XIII. DZIAŁANIE I OGRANICZENIA

A. Granica wykrywania

Dwadzieścia kalibratorów zerowych oznaczano wraz z zestawem innych kalibratorów. Granica wykrywania, zdefiniowana jako odmienne stężenie dwóch odchyłeń standardowych powyżej przeciętnej wartości zliczania przy wiązaniu zerowym kształtowała się na poziomie 0,7 U/ml.

B. Precyzja

W SERII				POMIĘDZY SERIAMI			
Surowica	N	X ± S.D. (U/ml)	CV %	Surowica	N	X ± S.D. (U/ml)	CV %
A	20	31.5 ± 1.2	3.9	A	20	38.0 ± 2.0	5.3
B	20	120.8 ± 2.8	2.3	B	20	114.5 ± 5.7	5.0

SD Odchylenie standardowe; CV: Współczynnik zmienności

C. Dokładność

BADANIE ODZYSKU			
CA 125 dodana (U/ml)	Stęż. zmierzone (U/ml)	Odzysk (%)	
31,1	35,5	114 %	
65,8	67,7	103 %	
124,3	135,7	109 %	
257,9	268,9	104 %	
531,8	552,4	104 %	

BADANIE ROZCIĘNCZENIA			
Próbka	Rozcieńczenie	Stęż. teoretyczne (U/ml)	Stęż. zmierzone (U/ml)
A	1/1	-	618,8
	1/2	309,4	310,7
	1/4	154,7	161,4
	1/8	77,4	80,9
	1/16	38,7	43,2
	1/32	19,3	21,6
	1/64	9,7	10,3

D. Opóźnienie pomiędzy oznaczeniem ostatniego kalibratora i dozowaniem próbki

Jak wykazano, wyniki pomiaru pozostają dokładne nawet wówczas, gdy od momentu dodania kalibratora do opłaszczonych próbówek minęło 30 minut.

OPÓŹNIENIE				
	0'	10'	20'	30'
S 1 (U/ml)	35,9	37,2	39,3	38,5
S 2 (U/ml)	104,5	113,5	117,7	116,6

E. Efekt hook'a

Próbki zawierające 340.000 U/ml CA 125 dają wynik powyżej ostatniego punktu kalibracji.

F. Swoistość

Oznaczenie DIAsource CA 125 IRMA oparte jest na dwóch mysich przeciwciałach monoklonalnych, OvK95 i Ov185, skierowanych wobec dwóm niezależnym epitopom rdzenia białkowego antygenu CA 125.

XIV. OGRANICZENIA

- Próbki od pacjentów, którzy w celach diagnostycznych lub terapeutycznych otrzymywali preparaty z mysich przeciwciał monoklonalnych, mogą zawierać ludzkie przeciwciała anty-mysie (HAMA). Próbki takie, oznaczane z użyciem zestawów testowych wykorzystujących mysie przeciwciała monoklonalne, mogą wykazywać wartości fałszywie zawyżone lub zaniżone.
- Przeciwciała heterofilne w ludzkiej surowicy mogą reagować z immunoglobulinami odczynnika, interferując z oznaczeniami immunologicznymi przeprowadzanymi in vitro. Pacjenci rutynowo ekspozowani na zwierzęta lub produkty z surowic zwierzęcych mogą wykazywać skłonność do takich interferencji i w razie obecności przeciwciał heterofilnych występować mogą u nich nieprawidłowe wyniki testów. Wyniki oznaczeń próbek od pacjentów z takimi przeciwciałami należy interpretować z ostrożnością. Jeżeli wyniki nie są zgodne z obserwacjami klinicznymi, przed postawieniem rozpoznania powinny być uzyskane dodatkowe informacje.

XV. WEWNĘTRZNA KONTROLA JAKOŚCI

- Jeżeli wyniki uzyskane dla kontroli 1 i/lub 2 nie znajdują się w zakresie określonym na etykiecie fiołki, wyniki nie mogą zostać wykorzystane dopóki nie uda się znaleźć właściwego wyjaśnienia tego odchylenia.
- Jeżeli to konieczne, każde laboratorium może wykonać własne próbki zbiorcze w celach kontrolnych, które powinny być zamrożone w małych objętościach. Nie wolno zamrażać i rozmrażać więcej niż dwukrotnie.
- Dopuszczalne kryteria dotyczące różnicy pomiędzy wynikami oznaczeń podwójnych próbek powinny być zgodne z zasadami prawidłowej pracy w laboratorium.

XVI. ZAKRESY REFERENCYJNE

Wśród 154 zdrowych ochotników 98% wyników było niższych od wartości 35,0 U/ml.

XVII. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OSTRZEŻENIA

Bezpieczeństwo

Tylko do diagnostyki in vitro.

Zestaw zawiera ¹²⁵I (Okres połowicznego rozpadu: 60 dni), emitujący promieniowanie jonizujące X (28 keV) i γ (35.5 keV).

Ten produkt radioaktywny może być transportowany i wykorzystany wyłącznie przez osoby autoryzowane; zakup, przechowywanie, stosowanie i wymiana produktów radioaktywnych podlega regulacjom prawnym kraju użytkownika końcowego. W żadnym wypadku produkt nie może być podawany ludziom lub zwierzętom.

Obsługa materiałów radioaktywnych powinno być przeprowadzana w miejscach do tego przeznaczonych, z dala od miejsc ogólnej użyteczności. W laboratorium musi być przechowywany rejestr przyjęć i przechowywania materiałów radioaktywnych. Wyposażenie laboratorium oraz szkło, które może być skażone substancjami radioaktywnymi powinno być oddzielone w celu uniknięcia krzyżowego zanieczyszczenia różnych radioizotopów.

Wszelkie płyny z substancji radioaktywnych muszą być natychmiast oczyszczone zgodnie z procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa radiologicznego. Odpady radioaktywne muszą być usuwane zgodnie z miejscowymi przepisami i ogólnie przyjętymi wytycznymi obowiązującymi w laboratorium. Przechowywanie podstawowych zasad bezpieczeństwa radiologicznego zapewnia wystarczające zabezpieczenie.

Składniki zawierające ludzką krew, dostarczone w zestawie, zostały przebadane metodami zaaprobowanymi przez instytucje europejskie i/lub FDA. Stwierdzono, że nie zawierają one HbsAg, przeciwciał anty-HCV, anty-HIV-1 i 2. Żadna ze znanych metod nie może dać całkowitej pewności że materiały pochodzenia ludzkiego nie przeniosą czynników zakaźnych wirusowego zapalenia wątroby, AIDS i innych. Dlatego postępowanie z odczynnikami i próbkami surowicy lub osocza powinno być zgodne z miejscowymi procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa. Produkty pochodzenia zwierzęcego były pobierane od zdrowych zwierząt. Składniki bydłace pochodzą z krajów, w których nie odnotowano występowania BSE. Pomimo to, składniki zawierające substancje pochodzenia zwierzęcego powinny być traktowane jako potencjalnie zakaźne. Unikać kontaktu skóry z odczynnikami (zawierają azydek sodowy jako środek konserwujący). Azydek znajdujący się w zestawie może reagować z miedzią i ołowiem w układzie kanalizacyjnym tworząc związki o właściwościach wybuchowych. W czasie płukania odprowadzany płyn należy płukać dużymi objętościami wody, aby zapobiec kumulacji azydków. Nie wolno palić, spożywać napojów ani pokarmów, bądź używać kosmetyków w miejscu pracy. Nie pipetować ustami. Zakładać ubranie ochronne i rękawiczki jednorazowe.

XVIII. BIBLIOGRAFIA

1.

BAST R., FEENEY M., LAZARUS H., NADLER L., COLVIN R., KNAPP R.
Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma.
J Clin Invest 1981;68:1331-1337.

2.

O'BRIEN T., RAYMOND L., BANNON G., FORD D., HARDARDOTTIR H., MILLER F., QUIRK J..
New monoclonal antibodies identify the glycoprotein carrying the CA 125 epitope.
Am J Obstet Gynecol 1991;165:1857-1864.

3.

BAST RC Jr., XU FJ., YU YH., BARNHILL S., ZHANG Z., MILSS GB.
CA 125 : The past and the future.
Int J Biol Markers 1998;13:179-187.

4.

BONFRER JMG., DUFFY MJ., RADTKE M., SEGURADO O., TORRE GC., VAN DALEN A., et al.
Tumor markers in glycolological cancers : EGTM recommendations.
Anticancer Res 1999;19:2807-2810.

5.

NIH CONSENSUS DEVELOPMENTAL PANEL ON OVARIAN CANCER : NIH CONSENSUS CONFERENCE.
Ovarian cancer : screening, treatment and follow-up.
JAMA 1995;273:491-497.

6.

PETIGNAT P., JORIS F., OBRIST R.
How CA 125 is used in routine clinical pratice.
Eur J Cancer 2000;36:1933-1937.

7.

VON SCHLIPPE M., RUSTIN GJ.
Circulating tumor markers in ovarian tumors.
Forum (Genova) 2000;10:383-392.

8.

COLAKOVIC S., LUKIC V., MITROVIC L., JELIC S., SUSNJAR S.,MARINKOVIC J.
Prognostic value of CA 125 kinetics and half-life in advanced ovarian cancer.
Int J Biol Markers 2000;15:147-152.

XIX. PODSUMOWANIE PROTOKOŁU

	CALKOWITA LICZBA ZLICZEŃ µl	KALIBRATORY ml	PRÓBKA(I) KONTROLE ml
Kalibratory (0-5) Próbki, kontrole Bufor inkubacyjny	- - -	100 - 50	- 100 50
Inkubacja	120 minut w temperaturze pokojowej z wytrząsaniem 400 rpm		
Rozdzielenie Roztwór płuczący Rozdzielenie Roztwór płuczący Rozdzielenie	- - - - -	aspiracja 2.0 aspiracja 2.0 aspiracja	
Znacznik izotopowy	100	100	100
Inkubacja	60 minut w temperaturze pokojowej z wytrząsaniem 400 rpm		
Rozdzielenie Roztwór płuczący Rozdzielenie Roztwór płuczący Rozdzielenie	- - - - -	aspiracja 2.0 aspiracja 2.0 aspiracja	
Zliczanie	Zliczanie próbek przez 60 sekund		

Nr katalogowy DIASource KIP0301	Numer P.I. 1700867/pl	Nr aktualizacji : 101029/1
------------------------------------	--------------------------	-------------------------------

Data wydania : 2010-10-29

	<u>Used symbols</u>
	Consult instructions for use
	Storage temperature
	Use by
LOT	Batch code
REF	Catalogue number
CONTROL	Control
I V D	In vitro diagnostic medical device
	Manufacturer
	Contains sufficient for <n> tests
WASH SOLN CONC	Wash solution concentrated
CAL 0	Zero calibrator
CAL N	Calibrator #
CONTROL N	Control #
Ag 125I	Tracer
Ab 125I	Tracer
Ag 125I CONC	Tracer concentrated
Ab 125I CONC	Tracer concentrated
	Tubes
INC BUF	Incubation buffer
ACETONITRILE	Acetonitrile
SERUM	Serum
DIL SPE	Specimen diluent
DIL BUF	Dilution buffer
ANTISERUM	Antiserum
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbent
DIL CAL	Calibrator diluent
REC SOLN	Reconstitution solution
PEG	Polyethylene glycol
EXTR SOLN	Extraction solution
ELU SOLN	Elution solution
GEL	Bond Elut Silica cartridges
PRE SOLN	Pre-treatment solution
NEUTR SOLN	Neutralization solution
TRACEUR BUF	Tracer buffer
U	Microtiterplate
Ab HRP	HRP Conjugate
Ag HRP	HRP Conjugate
Ab HRP CONC	HRP Conjugate concentrate
Ag HRP CONC	HRP Conjugate concentrate
CONJ BUF	Conjugate buffer
CHROM TMB CONC	Chromogenic TMB concentrate
CHROM TMB	Chromogenic TMB solution
SUB BUF	Substrate buffer
STOP SOLN	Stop solution
INC SER	Incubation serum
BUF	Buffer
Ab AP	AP Conjugate
SUB PNPP	Substrate PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotin conjugate concentrate
AVID HRP CONC	Avidine HRP concentrate
ASS BUF	Assay buffer
Ab BIOT	Biotin conjugate
Ab	Specific Antibody
SAV HRP CONC	Streptavidin HRP concentrate
NSB	Non-specific binding
2nd Ab	2nd Antibody
ACID BUF	Acidification Buffer

	<u>Symboles utilisés</u>
	Consulter les instructions d'utilisation
	Température de conservation
	Utiliser jusqu'à
LOT	Numéro de lot
REF	Référence de catalogue
CONTROL	Contrôle
I V D	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Fabricant
	Contenu suffisant pour <n> tests
WASH SOLN CONC	Solution de lavage concentrée
CAL 0	Calibrateur zéro
CAL N	Calibrateur #
CONTROL N	Contrôle #
Ag 125I	Traceur
Ab 125I	Traceur
Ag 125I CONC	Traceur concentré
Ab 125I CONC	Traceur concentré
	Tubes
INC BUF	Tampon d'incubation
ACETONITRILE	Acétonitrile
SERUM	Sérum
DIL SPE	Diluant du spécimen
DIL BUF	Tampon de dilution
ANTISERUM	Antisérum
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbant
DIL CAL	Diluant de calibrateur
REC SOLN	Solution de reconstitution
PEG	Glycol Polyéthylène
EXTR SOLN	Solution d'extraction
ELU SOLN	Solution d'élution
GEL	Cartouches Bond Elut Silica
PRE SOLN	Solution de pré-traitement
NEUTR SOLN	Solution de neutralisation
TRACEUR BUF	Tampon traceur
TIT	Microplaque de titration
Ab HRP	HRP Conjugué
Ag HRP	HRP Conjugué
Ab HRP CONC	HRP Conjugué concentré
Ag HRP CONC	HRP Conjugué concentré
CONJ BUF	Tampon conjugué
CHROM TMB CONC	Chromogène TMB concentré
CHROM TMB	Solution chromogène TMB
SUB BUF	Tampon substrat
STOP SOLN	Solution d'arrêt
INC SER	Sérum d'incubation
BUF	Tampon
Ab AP	AP Conjugué
SUB PNPP	Tampon PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotine conjugué concentré
AVID HRP CONC	Avidine HRP concentré
ASS BUF	Tampon de test
Ab BIOT	Biotine conjugué
Ab	Anticorps spécifique
SAV HRP CONC	Concentré streptavidine HRP
NSB	Liant non spécifique
2nd Ab	Second anticorps
ACID BUF	Tampon d'acidification

	<u>Gebrauchte Symbolen</u>
	Gebrauchsanweisung beachten
	Lagern bei
	Verwendbar bis
LOT	Chargenbezeichnung
REF	Bestellnummer
CONTROL	Kontrolle
I V D	In Vitro Diagnostikum
	Hersteller
	Ausreichend für <n> Ansätze
WASH SOLN CONC	Waschlösung-Konzentrat
CAL 0	Null kalibrator
CAL N	Kalibrator #
CONTROL N	Kontrolle #
Ag 125I	Tracer
Ab 125I	Tracer
Ag 125I CONC	Tracer Konzentrat
Ab 125I CONC	Tracer Konzentrat
	Röhrchen
INC BUF	Inkubationspuffer
ACETONITRILE	Azetonitril
SERUM	Humanserum
DIL SPE	Probenverdünner
DIL BUF	Verdünnungspuffer
ANTISERUM	Antiserum
IMMUNOADSORBENT	Immunadsorbens
DIL CAL	Kalibratorverdünnung
REC SOLN	Rekonstitutionslösung
PEG	Polyethylenglykol
EXTR SOLN	Extraktionslösung
ELU SOLN	Eluierungslösung
GEL	Bond Elut Silikakartuschen
PRE SOLN	Vorbehandlungslösung
NEUTR SOLN	Neutralisierungslösung
TRACEUR BUF	Tracer-Puffer
U	Mikrotiterplatte
Ab HRP	HRP Konjugat
Ag HRP	HRP Konjugat
Ab HRP CONC	HRP Konjugat Konzentrat
Ag HRP CONC	HRP Konjugat Konzentrat
CONJ BUF	Konjugatpuffer
CHROM TMB CONC	Chromogenes TMB Konzentrat
CHROM TMB	Farblösung TMB
SUB BUF	Substratpuffer
STOP SOLN	Stopplösung
INC SER	Inkubationsserum
BUF	Puffer
Ab AP	AP Konjugat
SUB PNPP	Substrat PNPP
BIOT CONJ CONC	Biotin-Konjugat-Konzentrat
AVID HRP CONC	Avidin-HRP-Konzentrat
ASS BUF	Assaypuffer
Ab BIOT	Biotin-Konjugat
Ab	Spezifischer Antikörper
SAV HRP CONC	HRP Streptavidinkonzentrat
NSB	Unspezifische Bindung
2nd Ab	Sekundärer Antikörper
ACID BUF	Ansäuerungspuffer

	<u>Símbolos utilizados</u>
	Consultar las instrucciones de uso
	Limitación de temperatura
	Fecha de caducidad
LOT	Código de lote
REF	Número de catálogo
CONTROL	Control
I V D	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Fabricante
	Contenido suficiente para <n> ensayos
WASH SOLN CONC	Solución de lavado concentrada
CAL 0	Calibrador cero
CAL N	Calibrador #
CONTROL N	Control #
Ag 125I	Trazador
Ab 125I	Trazador
Ag 125I CONC	Trazador concentrada
Ab 125I CONC	Trazador concentrada
	Tubos
INC BUF	Tampón de incubación
ACETONITRILE	Acetonitrilo
SERUM	Suero
DIL SPE	Diluyente de Muestra
DIL BUF	Tampón de dilución
ANTISERUM	Antisuero
IMMUNOADSORBENT	Inmunoadsorbente
DIL CAL	Diluyente de calibrador
REC SOLN	Solución de Reconstitución
PEG	Glicol Polietileno
EXTR SOLN	Solución de extracción
ELU SOLN	Solución de elución
GEL	Cartuchos Bond Elut Silica
PRE SOLN	Solución de Pre-tratamiento
NEUTR SOLN	Solución de Neutralización
TRACEUR BUF	Tampón de trazador
U	Placa de microvaloración
Ab HRP	HRP Conjugado
Ag HRP	HRP Conjugado
Ab HRP CONC	HRP Conjugado concentrada
Ag HRP CONC	HRP Conjugado concentrada
CONJ BUF	Tampón de Conjugado
CHROM TMB CONC	Cromógena TMB concentrada
CHROM TMB	Solución Cromógena TMB
SUB BUF	Tampón de sustrato
STOP SOLN	Solución de Parada
INC SER	Suero de Incubación
BUF	Tampón
Ab AP	AP Conjugado
SUB PNPP	Sustrato PNPP
BIOT CONJ CONC	Concentrado de conjugado de biotina
AVID HRP CONC	Concentrado avidina-HRP
ASS BUF	Tampón de ensayo
Ab BIOT	Conjugado de biotina
Ab	Anticuerpo específico
SAV HRP CONC	Estreptavidina-HRP Concentrado
NSB	Unión no específica
2nd Ab	Segundo anticuerpo
ACID BUF	Tampón de Acidificación

	<u>Simboli utilizzati</u>
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Limitazioni di temperatura
	Utilizzare entro
LOT	Numero di lotto
REF	Numero di catalogo
CONTROL	Controllo
I V D	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Fabbricante
	Contenuto sufficiente per <n> saggi
WASH SOLN CONC	Tampone di lavaggio concentrato
CAL 0	Calibratore zero
CAL N	Standard #
CONTROL N	Controllo #
Ag 125I	Marcato
Ab 125I	Marcato
Ag 125I CONC	Marcato concentrato
Ab 125I CONC	Marcato concentrato
	Provette
INC BUF	Tampone incubazione
ACETONITRILE	Acetonitrile
SERUM	Siero
DIL SPE	Diluente campione
DIL BUF	Tampone diluizione
ANTISERUM	Antisiero
IMMUNOADSORBENT	Immunoassorbente
DIL CAL	Diluente calibratore
REC SOLN	Soluzione di ricostituzione
PEG	Polietilenglicole
EXTR SOLN	Soluzione di estrazione
ELU SOLN	Soluzione di eluizione
GEL	Cartucce di silice bond elut
PRE SOLN	Soluzione di pretrattamento
NEUTR SOLN	Soluzione di neutralizzazione
TRACEUR BUF	Tracer Buffer
	Piastra di microtitolazione
Ab HRP	HRP Coniugato
Ag HRP	HRP Coniugato
Ab HRP CONC	HRP Coniugato concentrato
Ag HRP CONC	HRP Coniugato concentrato
CONJ BUF	Buffer coniugato
CHROM TMB CONC	Cromogena TMB concentrato
CHROM TMB	Soluzione cromogena TMB
SUB BUF	Tampone substrato
STOP SOLN	Soluzione di arresto
INC SER	Incubazione con siero
BUF	Buffer
Ab AP	AP Coniugato
SUB PNPP	Substrato PNPP
BIOT CONJ CONC	Concentrato coniugato con biotina
AVID HRP CONC	Concentrato avidina HRP
ASS BUF	Soluzione tampone per test
Ab BIOT	Coniugato con biotina
Ab	Anticorpo Specifico
SAV HRP CONC	Streptavidina-HRP concentrata
NSB	Legame non-specifico
2nd Ab	2° Anticorpo
ACID BUF	Tampone Acidificante

	<u>Използвани символи</u>
	Вижте инструкцията за работа
	Температура на съхранение
	Използвайте с
LOT	Партиден код
REF	Каталожен номер
CONTROL	Контрол
I V D	Ин витро диагностично медицинско изделие
	Производител
	Съдържание достатъчно за <n> теста
WASH SOLN CONC	Концентриран измиващ разтвор
CAL 0	Нулев калибратор
CAL N	Калибратор #
CONTROL N	Контрол #
Ag 125I	Трейсър
Ab 125I	Трейсър
Ag 125I CONC	Концентриран маркер
Ab 125I CONC	Концентриран маркер
	Епруветки
INC BUF	Инкубационен буфер
ACETONITRILE	Ацетонитрил
SERUM	Серум
DIL SPE	Разредител за пробите
DIL BUF	Буфер за разреждане
ANTISERUM	Антисерум
IMMUNOABSORBENT	Имуноабсорбент
DIL CAL	Разредител за калибратора
REC SOLN	Пресъздаващ разтвор
PEG	Полиетилен гликол
EXTR SOLN	Екстрактов разтвор
ELU SOLN	Разтвор за елюиране
GEL	Силикагелни пълнители
PRE SOLN	Пред-лечебен разтвор
NEUTR SOLN	Неутрализиращ разтвор
TRACEUR BUF	Маркерен буфер
	Микротитърна пластина
Ab HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ag HRP	HRP конюгат / Конюгат на хрянова пероксидаза
Ab HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
Ag HRP CONC	HRP конюгиран концентрат
CONJ BUF	Буфер за конюгата
CHROM TMB CONC	Хромогенен ТМВ концентрат
CHROM TMB	Хромогенен ТМВ разтвор
SUB BUF	Субстратен буфер
STOP SOLN	Стоп разтвор
INC SER	Инкубационен серум
BUF	Буфер
Ab AP	AP конюгат / конюгат на алкална фосфатаза
SUB PNPP	Субстрат PNPP / пара нитрофенил фосфат
BIOT CONJ CONC	Биотин конюгиран концентрат
AVID HRP CONC	Авидин HRP концентрат
ASS BUF	Буфер за пробите
Ab BIOT	Биотин конюгат
Ab	специфично антитяло
SAV HRP CONC	стрептавидин HRP концентрат
NSB	не специфично свързване
2nd Ab	второ антитяло
ACID BUF	киселинизиращ буфер

	<u>Επεξήγηση συμβόλων</u>
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Θερμοκρασία αποθήκευσης
	Ημερομηνία λήξης
LOT	Αριθμός παρτίδας
REF	Αριθμός καταλόγου
CONTROL	Πρότυπο ελέγχου
I V D	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Κατασκευαστής
	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις
WASH SOLN CONC	Συμπυκνωμένο διάλυμα έκπλυσης
CAL 0	Μηδενικός βαθμονομητής
CAL N	Βαθμονομητής #
CONTROL N	Ορός ελέγχου #
Ag 125I	Ιχνηθέτης
Ab 125I	Ιχνηθέτης
Ag 125I CONC	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης
Ab 125I CONC	Χρωμογόνος Ιχνηθέτης
	Σώληνάρια
INC BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης
ACETONITRILE	Ακετονιτρίλιο
SERUM	Ορός
DIL SPE	Διάλυμα αραίωσης δειγμάτων
DIL BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα αραίωσης
ANTISERUM	Αντιορός
IMMUNOADSORBENT	Ανοσοπροσροφητικό
DIL CAL	Αραιωτικό βαθμονομητών
REC SOLN	Διάλυμα ανασύστασης
PEG	Πολυαιθυλενογλυκόλη
EXTR SOLN	Διάλυμα εκχύλισης
ELU SOLN	Διάλυμα έκλουσης
GEL	Φύσιγγες πυριτίου Bond Elut
PRE SOLN	Διάλυμα προεπεξεργασίας
NEUTR SOLN	Διάλυμα εξουδετέρωσης
TRACEUR BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα
	Πλάκα μικροτιτλοδότησης
Ab HRP	HRP Σύζευγμα
Ag HRP	HRP Σύζευγμα
Ab HRP CONC	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα
Ag HRP CONC	Χρωμογόνος HRP Σύζευγμα
CONJ BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα συζεύγματος
CHROM TMB CONC	Χρωμογόνος TMB
CHROM TMB	Διάλυμα χρωμογόνου TMB
SUB BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
STOP SOLN	Ανασχετικό αντιδραστήριο
INC SER	Ορός επώασης
BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα
Ab AP	AP Σύζευγμα
SUB PNPP	PNPP υποστρώματος
BIOT CONJ CONC	Συμπυκνωμένο αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη
AVID HRP CONC	Συμπυκνωμένο διάλυμα αβιδίνης-HRP
ASS BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού
Ab BIOT	αντιδραστήριο συζευγμένο με βιοτίνη
Ab	Ειδικό Αντίσωμα
SAV HRP CONC	Συμπυκνωμένη στρεπταβιδίνη συνεξευγμένη με HRP
NSB	μη-ειδική δέσμευση
2nd Ab	2ο Αντίσωμα
ACID BUF	Ρυθμιστικό Διάλυμα όξινο

	<u>Stosowane symbole</u>
	Przed zastosowaniem zapoznać się z instrukcją
	Temperatura przechowywania
	Zużyć przed
LOT	Kod serii
REF	Numer katalogowy
CONTROL	Kontrola
I V D	Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro
	Producent
	Zawartość wystarczająca do <n> testów
WASH SOLN CONC	Roztwór płuczący stężony
CAL 0	Kalibrator zerowy
CAL N	Kalibrator nr
CONTROL N	Kontrola nr
Ag 125I	Znacznik izotopowy
Ab 125I	Znacznik izotopowy
Ag 125I CONC	Znacznik izotopowy stężony
Ab 125I CONC	Znacznik izotopowy stężony
	Probówki
INC BUF	Wymagana inkubacja buforu
ACETONITRILE	Acetonitryl
SERUM	Surowica
DIL SPE	Rozcieńczalnik próbek
DIL BUF	Bufor do rozcieńczania
ANTISERUM	Antysurowica
IMMUNOADSORBENT	Immunoabsorbent
DIL CAL	Rozcieńczalnik kalibratora
REC SOLN	Roztwór do rozcieńczania
PEG	Glikol poli(oksy)etylenowy
EXTR SOLN	Roztwór ekstrakcyjny
ELU SOLN	Roztwór elucyjny
GEL	Kolumny krzemionkowe Bond Elut
PRE SOLN	Roztwór do przygotowania wstępnego
NEUTR SOLN	Roztwór neutralizujący
TRACEUR BUF	Bufor znacznika
ULF	mikropłytki
Ab HRP	Koniugat peroksydazy chrzanowej
Ag HRP	Koniugat peroksydazy chrzanowej
Ab HRP CONC	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej
Ag HRP CONC	Koncentrat koniugatu peroksydazy chrzanowej
CONJ BUF	Bufor do koniugacji
CHROM TMB CONC	Koncentrat chromogenu TMB (czterometylobenzydyny)
CHROM TMB	Roztwór chromogenu TMB (czterometylobenzydyny)
SUB BUF	Bufor substratu
STOP SOLN	Roztwór zatrzymujący reakcję
INC SER	Wymagana inkubacja surowicy
BUF	Bufor
Ab AP	Koniugat AP (fosfatazy alkalicznej)
SUB PNPP	p-nitrofenylofosforan substratowy
BIOT CONJ CONC	Koncentrat koniugatu biotyny
AVID HRP CONC	Koncentrat peroksydazy chrzanowej z awidyną
ASS BUF	Bufor do oznaczania
Ab BIOT	Koniugatu biotyny
Ab	Przeciwciało swoiste
SAV HRP CONC	Koncentrat streptawidyny HRP
NSB	Wiązanie nieswoiste
2nd Ab	Drugie przeciwciało
ACID BUF	Bufor zakwaszający