



IRMA MUC-1 gene associated antigen (CA 15-3)

REF IM2397, B64314

TABLE OF CONTENTS

| | | | |
|-----------------------|----|----------------------|----|
| English | 2 | Čeština | 25 |
| Français | 4 | Slovenčina | 28 |
| Deutsch | 7 | 한국어 | 31 |
| Italiano | 10 | Türkçe | 33 |
| Español | 13 | Русский | 35 |
| Ελληνικά | 16 | Србија | 38 |
| Lietuviškai | 19 | APPENDIX | 41 |
| Polski | 22 | | |

ООО «Бекмен Култер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com



IMMUNOTECH s.r.o., Radiova 1, 102 27 Prague 10, Czech Republic

IRMA MUC-1 gene associated antigen (CA 15-3)

REF IM2397, B64314

IMMUNORADIOMETRIC ASSAY FOR THE IN VITRO DETERMINATION OF MUC-1 GENE ASSOCIATED ANTIGEN (CA 15-3) IN HUMAN SERUM AND PLASMA For *in vitro* diagnostic use.

PRINCIPLE

The MUC-1 gene associated antigen (CA 15-3) assay is a two-step "sandwich" type assay in which two mouse monoclonal antibodies, directed against two different epitopes of the molecule, are employed.

Samples or calibrators are incubated in tubes coated with the first monoclonal antibody, the contents of the tubes are then aspirated and the presence of CA 15-3 in the sample is revealed by incubation with a second, ¹²⁵I-labeled monoclonal antibody. The contents of the tubes are aspirated after this second incubation and unbound labeled antibody is eliminated by washing. The amount of bound reactivity measured in a gamma counter is proportional to the CA 15-3 concentration. The unknown values are determined by interpolation from a standard curve.

This device is indicated for use in the measurement of CA 15-3 antigen to aid in the management of breast cancer patients. Elevated concentrations may be observed in the serum or plasma of patients with benign conditions or other non-cancer disorders, as well as in breast cancer and other malignant diseases.

WARNING AND PRECAUTIONS

General remarks:

- The vials with calibrators and controls should be opened as shortly as possible to avoid excessive evaporation.
- Do not mix the reagents from kits of different lots.
- A standard curve must be included with each assay.
- The correct setting of the shaker is very important for the reproducibility of the assay.
- It is recommended to perform the assay in duplicate.
- Each tube must be used only once.

Basic rules of radiation safety

The purchase, possession, utilization, and transfer of radioactive material is subject to the regulations of the country of use. Adherence to the basic rules of radiation safety should provide adequate protection:

- No eating, drinking, smoking or application of cosmetics should be carried out in the presence of radioactive materials.
- No pipeting of radioactive solutions by mouth.
- Avoid all contact with radioactive materials by using gloves and laboratory overalls.
- All manipulation of radioactive substances should be done in an appropriate place, distant from corridors and other busy places.
- Radioactive materials should be stored in the container provided in a designated area.
- A record of receipt and storage of all radioactive products should be kept up to date.
- Laboratory equipment and glassware which are subject to contamination should be segregated to prevent cross-contamination of different radioisotopes.
- Each case of radioactive contamination or loss of radioactive material should be resolved according to established procedures.
- Radioactive waste should be handled according to the rules established in the country of use.

Sodium azide

Some reagents contain sodium azide as a preservative. Sodium azide can react with lead, copper or brass to form explosive metal azides. Dispose of the reagents by flushing with large amounts of water through the plumbing system.

Material of human origin

The materials of human origin, contained in this kit, were found negative for the presence of antibodies to HIV 1 and HIV 2, antibodies to HCV, as well as of Hepatitis B surface antigen (HBsAg). However, they should be handled as if capable of transmitting disease. No known test method can offer total assurance that no virus is present. Handle this kit with all necessary precautions.

All serum and plasma samples should be handled as if capable of transmitting hepatitis or AIDS. Waste should be discarded according to the country rules.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Not classified as hazardous

SDS

Safety Data Sheet is available at techdocs.beckmancoulter.com

SPECIMEN COLLECTION, PROCESSING, STORAGE AND DILUTION

- Collect blood in dry tubes or in tubes containing EDTA.
- Separate serum or plasma from cells by centrifugation.
- Serum and plasma samples may be stored at 2-8°C, if the assay is to be performed within 24 hours. For longer storage keep frozen (at < -20°C, 3 months maximum). Samples should be aliquoted to avoid repeated freezing and thawing. Thawing of sample should be performed at room temperature.
- Dilute samples showing a concentration exceeding that of the highest calibrator with kit diluent.

Serum and EDTA plasma values for 15 samples (serum values ranging from 11.86 to 165.2 U/mL) were compared using the IM2397 IRMA MUC-1 gene associated antigen kit. Results are as follows:

[EDTA-plasma] = 1.1233 [serum] -1.1026

R = 0.9942

MATERIALS PROVIDED

All reagents of the kit are stable until the expiry date indicated on the kit label, if stored at 2-8°C. Expiry dates printed on vial labels apply to the long-term storage of components by the manufacturer only, prior to assembly of the kit. Do not take into account.

Kit for determination of CA 15-3, 100 tubes (Cat #IM2397)

Anti-CA 15-3 antibody-coated tubes: 2 x 50 tubes (ready-to-use)

¹²⁵I-labeled monoclonal antibody: one 22 mL vial (ready-to-use)

The vial contains 600 kBq at time of manufacture of ¹²⁵I- labeled monoclonal antibody with bovine serum albumine, sodium azide (<0.1%) and a dye.

Calibrators: four 2 mL vials + one zero 4 mL vial (ready-to-use)

The calibrator vials contain between 0 to approximately 250 U/mL of human CA 15-3 in buffer containing bovine serum albumin and sodium azide (<0.1%). The exact concentration is indicated on each vial label. After opening, the vials can be stored at 2-8°C until the expiration date of the kit. Calibrators are verified to an internal reference standard.

Control serum: one 1 mL vial (ready-to-use)

The vial contains human CA 15-3 in human serum with sodium azide (<0.1%). The expected values are in the concentration range indicated on a supplement. When opened, the vial may be stored at 2-8°C for 2 weeks. For longer periods, freeze at < -18°C.

Diluent: one 50 mL vial (ready-to-use)

The vial contains bovine serum albumin in buffer. After opening, the vial can be stored at 2-8°C until the expiration date of the kit.

Kit for determination of CA 15-3, 50 tubes (Cat #B64314)

Anti-CA 15-3 antibody-coated tubes: 1 x 50 tubes (ready-to-use)

¹²⁵I-labeled monoclonal antibody: one 22 mL vial (ready-to-use)

Calibrators: four 2 mL vials + one zero 4 mL vial (ready-to-use)

Control serum: one 1 mL vial (ready-to-use)

Diluent: one 50 mL vial (ready-to-use)

MATERIALS REQUIRED, BUT NOT PROVIDED

In addition to standard laboratory equipment, the following items are required:

- precision micropipets (10 µL, 200 µL, 500 µL)

- repeating micropipets (200 µL, 2 mL).
- "vortex" type mixer.
- horizontal or orbital shaker.
- aspiration system.
- gamma counter.

RESULTS

Results are obtained from the standard curve by interpolation. The curve serves for the determination of CA 15-3 concentrations in samples measured at the same time as the calibrator.

Standard curve

The results in the quality control department were calculated using *spline* curve fit with determined radioactivity ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) on the log vertical axis and analyte concentration of the calibrators on the log horizontal axis (U/mL).

Other data reduction methods may give slightly different results.

| Total activity: 241,627 cpm | | | | |
|-----------------------------|----------------|-----------|---------|--------------------------|
| Calibrators | CA 15-3 (U/mL) | cpm (n=3) | B/T (%) | $cpm_{cal} - cpm_{cal0}$ |
| 0 | 0 | 215 | 0.09 | - |
| 1 | 15 | 7,414 | 3.07 | 7,199 |
| 2 | 53 | 21,360 | 10.08 | 21,145 |
| 3 | 143 | 42,813 | 17.72 | 42,598 |
| 4 | 279 | 63,497 | 26.28 | 63,282 |

(Example of standard curve, do not use for calculation)

Samples

For each sample, locate the cpm or B/T value on the vertical axis and read off the corresponding analyte concentration on the horizontal axis.

The concentrations of diluted samples must be corrected by the dilution factor.

Note: the concentration indicated on each calibrator vial label already takes into account the 1:51 predilution which therefore must be neglected when calculating the concentration in a non-diluted sample.

EXPECTED VALUES

We recommend each laboratory to establish its own reference values. The following values obtained from healthy subjects are indicative only.

| Number of subjects | Average (x) | 95 th percentil | 99 th percentil |
|--------------------|-------------|----------------------------|----------------------------|
| 160 | 20.3 U/mL | 36 U/mL | 43 U/mL |

Diagnostic sensitivity: To evaluate the clinical utility, 170 samples of patients with non-metastatic breast cancer prior to any treatment were assayed. Within this population, values above 35 U/mL were found in 49 patients. That corresponds to 28.8% clinical sensitivity of the marker at the time of diagnosis of breast cancer.

QUALITY CONTROL

Good laboratory practices imply that control samples be used regularly to ensure the quality of the results obtained. These samples must be processed exactly the same way as the assay samples, and it is recommended that their results be analyzed using appropriate statistical methods.

In case of packaging deterioration or if data obtained show some performance alteration, please contact your local distributor or use the following e-mail address: imunochem@beckman.com

PROCEDURE

Preparation of reagents

Let the reagents come to room temperature.

Dilution of samples and controls

Dilute samples and control to be assayed to 1/51, by adding 10 µL of sample or control into plastic or glass tubes and then adding to each tube 500 µL of diluent. Shake gently before the assay.

DO NOT DILUTE CALIBRATORS

Assay procedure

Bring all reagents to room temperature before pipeting.

| Immunological step 1 | Immunological step 2 | Counting |
|---|---|--|
| To coated tubes add 200 µL of calibrator, of diluted sample or of diluted control | Aspirate the content of each tube, then wash twice with 2 mL of distilled water | Aspirate the content of each tube, then wash twice with 2 mL of distilled water (except the 2 " total cpm ") |
| | Carefully aspirate, then add 200 µL of tracer in each tube | Carefully aspirate |
| Incubate 2 hours at 18-25°C with shaking (>280 rpm). | Incubate 1 hour at 18-25°C with shaking (>280 rpm). | Count for 1 minute bound cpm (B) and total cpm (T) |

*Add 200 µL of tracer to 2 additional tubes to obtain total cpm.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

(for more details, see the data sheet "APPENDIX")

Representative data are provided for illustration only. Performance obtained in individual laboratories may vary.

Sensitivity

Analytical sensitivity: 0.15 U/mL

Functional sensitivity: 5.34 U/mL

Specificity: The kit is specific of the CA 15-3.

Precision

Intra-assay:

Serum samples were assayed 25 times in the same series. The coefficients of variation were found below or equal to 6.2%.

Inter-assay:

Serum samples were assayed in duplicate in 25 different series. Coefficients of variation were found below or equal to 8.4%.

Accuracy

Dilution test

High-concentration serum samples were serially diluted with the kit diluent. The recovery percentages obtained were between 80.9% and 101%.

Recovery test

Low-concentration serum samples were spiked with known quantities of CA 15-3. The recovery percentages obtained were between 86% and 108%.

Measurement range (from analytical sensitivity to highest calibrator):

0.15 to approximately 250 U/mL.

LIMITATIONS

The non-respect of the instructions in this package insert may affect results significantly. Results should be interpreted in the light of the total clinical presentation of the patient, including clinical history, data from additional tests and other appropriate information.

For assays employing antibodies, the possibility exists for interference by heterophile antibodies in the patient sample. Patients who have been regularly exposed to animals or have received immunotherapy or diagnostic procedures utilizing immunoglobulins or immunoglobulin fragments may produce antibodies, e.g. HAMA, that interfere with immunoassays.

Such interfering antibodies may cause erroneous results. Carefully evaluate the results of patients suspected of having these antibodies.

Interference

The assay is not affected by hemoglobin (5 mg/mL), triglycerids (30 mg/mL) and bilirubin (0.4 mg/mL).

Hook effect

There is no hook effect when the two-step procedure is used.

IRMA MUC-1 gene associated antigen (CA 15-3)

REF IM2397, B64314

TROUSSE IMMUNORADIOMETRIQUE POUR LE DOSAGE IN VITRO DU MUC-1 GENE ASSOCIATED ANTIGEN (CA 15-3) DANS LE SERUM ET LE PLASMA HUMAIN Pour un usage diagnostique *in vitro*.

PRINCIPE

Le dosage du MUC-1 gene associated antigen (CA 15-3) est basé sur la technique de type " sandwich " en deux temps dans lequel deux anticorps monoclonaux de souris sont dirigés contre deux épitopes différents de la molécule.

Les échantillons à doser ou les calibrateurs sont incubés dans des tubes recouverts du premier anticorps monoclonal. A la fin de cette phase, le contenu des tubes est aspiré et la présence du CA 15-3 est révélée par l'incubation du deuxième anticorps monoclonal marqué à l'iode 125. Après incubation, le contenu des tubes est aspiré et l'excès d'anticorps marqué non lié est éliminé par lavage. La quantité de radioactivité liée, mesurée dans un compteur gamma est proportionnelle à la concentration de CA 15-3. Les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de la courbe standard.

Ce dispositif est indiqué pour être utilisé dans la mesure de l'antigène CA 15-3 pour aider la prise en charge de patientes atteintes d'un cancer du sein. Des concentrations élevées peuvent être observées dans le sérum ou dans le plasma de patients souffrant d'affections bénignes ou d'autres troubles non cancéreux, ainsi que de cancer du sein et d'autres maladies malignes.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Précautions générales

- Les flacons de calibrateurs et de contrôles doivent être ouverts des temps aussi courts que possible afin d'éviter une évaporation trop importante.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents.
- Effectuer simultanément la courbe standard et le dosage des échantillons.
- Le bon réglage de l'agitateur est une condition importante pour la reproductibilité du dosage.
- Il est recommandé de réaliser les dosages en double.
- Chaque tube ne doit être utilisé qu'une seule fois.

Les règles de bases de la radio protection

L'achat, la possession, l'utilisation et l'échange de matières radioactives sont soumis aux réglementations en vigueur dans le pays de l'utilisateur. L'application des règles de base de protection contre les rayonnements ionisants assure une protection adéquate. Certaines d'entre elles sont rappelées ci-après :

- Ne pas manger, ni boire, ni fumer, ni appliquer de cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés.
- Ne pas pipeter des solutions radioactives avec la bouche.
- Eviter le contact direct avec tout produit radioactif en utilisant des blouses et des gants de protection.
- Toute manipulation de matières radioactives se fera dans un local approprié, éloigné de tout passage.
- Les produits radioactifs seront stockés dans leur conditionnement d'origine dans un local approprié.
- Un cahier de réception et de stockage de produits radioactifs sera tenu à jour.
- Le matériel de laboratoire et la verrerie qui ont été contaminés doivent être éliminés au fur et à mesure afin d'éviter une contamination croisée de plusieurs isotopes.
- Chaque cas de contamination ou perte de substance radioactive devra être résolu selon les procédures établies.
- Toute mise aux déchets de matière radioactive se fera en accord avec les règlements en vigueur.

Azide de sodium

Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium comme agent conservateur. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb, le cuivre et le laiton, et former des azides métalliques explosifs. Lors du rejet de

telles solutions à l'évier, laisser couler un volume important d'eau dans les canalisations.

Les produits d'origine humaine

Les produits d'origine humaine contenus dans les réactifs de cette trousse ont subi un dépistage négatif, concernant les anticorps anti-VIH 1, et VIH 2, les anticorps VHC, et l'antigène de surface HBs, mais doivent cependant être manipulés comme des produits infectieux. En effet, aucune méthode connue ne peut assurer l'absence complète de virus, c'est pourquoi il est nécessaire de prendre des précautions lors de leur manipulation.

Tous les échantillons de sérum ou de plasma doivent être manipulés comme étant susceptibles de contenir les virus de l'hépatite ou du SIDA. Les déchets doivent être éliminés selon les réglementations nationales en vigueur.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Non classifié comme dangereux

SDS

La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse techdocs.beckmancoulter.com

PRELEVEMENT, PREPARATION, CONSERVATION ET DILUTION DES ECHANTILLONS

- Recueillir le sang dans des tubes secs sans additif ou des tubes contenant de l'EDTA.
- Séparer le sérum ou le plasma des cellules par centrifugation.
- Les échantillons sériques ou plasmatiques peuvent être conservés à 2-8 °C si le dosage est réalisé dans les 24 heures. Sinon, il est préférable de les conserver congelés, de préférence aliquotés (à < -20 °C; 3 mois maximum) afin d'éviter les congélations et décongélations successives. La décongélation de l'échantillon peut être réalisée à température ambiante.
- Si l'échantillon a une concentration supérieure au point de gamme le plus élevé, le diluer en utilisant le diluant de la trousse.

Des valeurs sériques et de plasma EDTA de 15 échantillons (valeurs sériques allant de 11,86 à 165,2 U/mL) ont été comparés au moyen de la trousse IM2397 MUC-1 gene associated antigen pour le dosage du CA 15-3. Les résultats sont comme suit :

[plasma EDTA] = 1,1233 [serum] - 1,1026

r = 0,9942

MATÉRIEL FOURNI

Tous les réactifs de la trousse conservés non ouverts à 2-8 °C sont stables jusqu'à la date de péremption mentionnée sur la trousse. Les dates d'expiration imprimées sur les étiquettes des flacons concernent uniquement le stockage à long terme des réactifs par le fabricant, avant l'assemblage de la trousse. Ne pas en tenir compte.

Trousse CA 15-3 IRMA (100 tubes, Réf. IM2397)

Tubes revêtus d'anticorps anti-CA 15-3 : 2 x 50 tubes (prêts à l'emploi)

Traceur anticorps anti-CA 15-3 marqué à l'iode 125 : un flacon de 22 mL (prêt à l'emploi)

Le flacon contient en début de lot 600 kBq d'anticorps anti-CA 15-3 marqué, sous forme liquide, en présence d'albumine sérique bovine, d'azide de sodium (<0,1 %) et d'un colorant.

Calibrateurs : 4 flacons 2 mL + 1 flacon calibrateur zéro 4 mL (prêts à l'emploi)

Les flacons de calibrateur contiennent des quantités de CA 15-3 d'origine humaine en solution dans un tampon contenant de l'albumine sérique bovine et de l'azide de sodium (<0,1 %), permettant d'établir une gamme d'étalonnage entre 0 à environ 250 U/mL. Les concentrations sont indiquées sur l'étiquette de chaque flacon. Après ouverture des flacons, conserver à 2-8 °C jusqu'à la date d'expiration de la trousse. Les calibrateurs sont validés sur un standard interne de référence.

Sérum de contrôle : 1 flacon de 1 mL (prêt à l'emploi)

Le flacon contient du CA 15-3 d'origine humaine dans du sérum humain et de l'azide de sodium (<0,1 %). Les valeurs attendues sont dans la gamme de concentration indiquée sur le supplément. Après ouverture, le sérum de contrôle de la trousse peut-être conservé à 2-8 °C pendant 2 semaines ou aliquoté à < -18 °C au delà.

Diluant : un flacon de 50 mL (prêt à l'emploi)

Le flacon contient de l'albumine sérique bovine dans un tampon. Après ouverture du flacon, conserver à 2-8 °C jusqu'à la date d'expiration de la trousse

Trousse CA 15-3 IRMA (50 tubes, Réf. B64314)

Tubes revêtus d'anticorps anti-CA 15-3 : 1 x 50 tubes (prêts à l'emploi)

Traceur anticorps anti-CA 15-3 marqué à l'iode 125 : un flacon de 22 mL (prêt à l'emploi)

Calibrateurs : 4 flacons 2 mL + 1 flacon calibrateur zéro 4 mL (prêts à l'emploi)

Sérum de contrôle : 1 flacon de 1 mL (prêt à l'emploi)

Diluant : un flacon de 50 mL (prêt à l'emploi)

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

En plus de l'équipement de laboratoire usuel, il est nécessaire d'utiliser le matériel suivant :

- micropipettes de précision (10 µL, 200 µL, 500 µL).
- pipettes semi-automatiques (200 µL, 2 mL).
- mélangeur de type "Vortex".
- agitateur à mouvement de va et vient horizontal ou à plateau oscillant.
- système d'aspiration.
- compteur gamma.

RÉSULTATS

Les résultats sont déduits de la courbe standard par interpolation. La courbe sert à déterminer les taux de CA 15-3 des échantillons dosés en même temps que les calibrateurs.

Courbe standard

Les résultats obtenus par le service chargé du contrôle de qualité ont été calculés en utilisant un ajustement de courbe *spline* avec ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) sur l'axe log vertical et la concentration en analyte des calibrateurs sur l'axe log horizontal (U/mL).

L'utilisation d'un autre mode de calcul peut conduire à des résultats légèrement différents.

| Activité totale : 241 627 cpm | | | | |
|-------------------------------|----------------|-----------|---------|--------------------------|
| Calibrateurs | CA 15-3 (U/mL) | cpm (n=3) | B/T (%) | $cpm_{cal} - cpm_{cal0}$ |
| 0 | 0 | 215 | 0,09 | - |
| 1 | 15 | 7 414 | 3,07 | 7 199 |
| 2 | 53 | 21 360 | 10,08 | 21 145 |
| 3 | 143 | 42 813 | 17,72 | 42 598 |
| 4 | 279 | 63 497 | 26,28 | 63 282 |

(Exemple de courbe standard, ne pas utiliser pour les calculs)

Echantillons

Pour chaque échantillon, repérer les valeurs de cpm ou B/T sur l'axe vertical et lire la concentration de l'échantillon en analytes correspondante sur l'axe horizontal.

Les concentrations des échantillons dilués doivent être corrigées avec le facteur de dilution.

Attention : la concentration indiquée pour chaque calibrateur tient compte de la prédilution au 1/51ème des échantillons, il n'est donc pas nécessaire de prendre en compte cette pré-dilution pour le calcul de la concentration des échantillons.

VALEURS ATTENDUES

Il est conseillé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de références. Les valeurs suivantes, déterminées chez des sujets présumés sains, sont données à titre indicatif.

| Nombre de sujets | Moyenne (x) | 95ème percentile | 99ème percentile |
|------------------|-------------|------------------|------------------|
| 160 | 20,3 U/mL | 36 U/mL | 43 U/mL |

Sensibilité diagnostique : Pour évaluer l'utilité clinique, 170 échantillons de patientes présentant un cancer du sein non métastatique avant tout traitement ont été dosés. Dans cette population des valeurs au dessus de 35 U/mL ont été trouvées pour 49 patientes. Cela correspond à 28,8 % de sensibilité clinique du marqueur au moment du diagnostic du cancer du sein.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les bonnes pratiques de laboratoire impliquent que des échantillons de contrôle soient utilisés dans chaque série de dosage pour s'assurer de la qualité des résultats obtenus. Ces échantillons devront être traités de la même façon que les prélèvements à doser et il est recommandé d'en analyser les résultats à l'aide de méthodes statistiques appropriées.

En cas de détérioration de l'emballage ou si les résultats obtenus montrent une perte de performance du produit, veuillez contacter notre service Support Technique. E-mail : imunochem@beckman.com

PROCÉDURE

Préparation des réactifs

Equilibrer les réactifs à température ambiante.

Dilution des échantillons et contrôle

Diluer les échantillons ou le contrôle à doser au 1/51e, en distribuant 10 µL de chaque échantillon dans des tubes plastiques ou en verre et en ajoutant à chaque tube 500 µL de diluant. Agiter doucement les tubes avant le dosage.

NE PAS DILUER LES CALIBRATEURS

Mode opératoire

Equilibrer les réactifs à la température du laboratoire avant utilisation.

| Etape immunologique 1 | Etape immunologique 2 | Comptage |
|--|--|---|
| Distribuer dans les tubes recouverts d'anticorps 200 µL d'échantillon ou contrôle pré-dilués ou de calibrateur | Aspirer le contenu de chaque tube, puis laver à 2 reprises en ajoutant 2 mL d'eau distillée par tube | Aspirer le contenu de chaque tube puis laver à 2 reprises en ajoutant 2 mL d'eau distillée par tube (sauf les "cpm totaux") |
| Incuber 2 heures à 18-25 °C avec agitation à >280 rpm. | Aspirer soigneusement puis distribuer 200 µL de traceur dans chaque tube | Aspirer soigneusement |
| | Incuber 1 heure à 18-25 °C avec agitation >280 rpm. | Compter les cpm liés (B) et les cpm totaux (T) pendant 1 minute |

*Ajouter 200 µL de tracer dans 2 tubes supplémentaires pour obtenir les cpm totaux.

PERFORMANCES DU DOSAGE

(voir la feuille "APPENDIX" pour plus de détails)

Les données représentatives ne sont fournies qu'à titre d'illustration. Les performances obtenues dans les laboratoires individuels peuvent varier.

Sensibilité

Sensibilité analytique : 0,15 U/mL

Sensibilité fonctionnelle : 5,34 U/mL

Spécificité : la trousse est spécifique du CA 15-3.

Précision

Intra-essai:

Des échantillons sériques ont été dosés 25 fois dans une même série. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 6,2 %.

Inter-essais:

Des échantillons sériques ont été dosés dans 25 séries différentes en doublet. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 8,4%.

Exactitude

Epreuve de dilutions

Des échantillons de concentration élevée ont été dilués dans le diluant de la trousse. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 80,9% et 101%.

Epreuve de surcharge

Des quantités connues de CA 15-3 ont été ajoutées à des sérums humains. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 86% et 108%.

Plage de mesure (de la sensibilité analytique au calibrateur le plus élevé) :
0,15 à environ 250 U/mL.

LIMITES

Le non-respect des recommandations indiquées dans cette notice peut avoir un impact significatif sur les résultats. Les résultats doivent être interprétés à la lumière du dossier clinique complet du patient, incluant l'historique clinique et les données des tests additionnels et toute autre information appropriée.

Pour les tests employant des anticorps, il existe la possibilité d'une interférence par des anticorps hétérophiles présents dans l'échantillon du patient. Les patients qui ont été régulièrement exposés à des animaux ou qui ont reçu une immunothérapie ou qui ont subi des procédures diagnostiques utilisant des immunoglobulines ou des fragments d'immunoglobulines peuvent produire des anticorps, par exemple des anticorps HAMA (anticorps humains anti-souris), qui interfèrent avec les tests immunologiques.

Ces anticorps qui interfèrent peuvent être la cause de résultats erronés. Evaluer avec précaution les résultats de patients suspectés de posséder ces anticorps.

Interférences

Le dosage n'est pas influencé par l'hémoglobine (5 mg/mL), les triglycérines (30 mg/mL) et bilirubine (0,4 mg/mL).

Effet crochet

L'utilisation d'un protocole en deux temps dans ce dosage permet d'éviter l'effet crochet.

IRMA MUC-1 gene associated antigen (CA 15-3)

REF IM2397, B64314

IMMUNORADIOMETRISCHER ASSAY FÜR DIE QUANTITATIVE IN VITRO BESTIMMUNG VON MUC-1 GEN ASSOZIIERTEM ANTIGEN (CA 15-3) IN HUMANEM SERUM UND PLASMA *In-vitro-Diagnostikum.*

PRINZIP

Der CA 15-3 Assay ist ein "two-step sandwich type" Assay, in dem zwei monoklonale Mausantikörper gegen unterschiedliche Teile des Moleküls verwendet werden.

Die Proben und die Kalibrators werden zunächst in den beschichteten Röhrchen mit dem ersten monoklonalen Antikörper inkubiert, der Inhalt der Röhrchen wird dann abgesaugt und das Vorhandensein von CA15-3 monoklonalen Antikörpern wird durch die Inkubation mit einem zweiten ¹²⁵I-markierten, monoklonalen Antikörper nachgewiesen. Der Inhalt wird nach der zweiten Inkubation abgesaugt und ungebundene markierte Antikörper werden durch Waschen entfernt. Die Menge der gebundenen Radioaktivität, die im Gamma-Counter gemessen wird, ist proportional zu der CA15-3 Konzentration. Die unbekanntenen Werte können durch Interpolation aus der Standardkurve bestimmt werden.

Die Bestimmung des CA15-3 Antigens unterstützt die Therapie bzw. Verlaufskontrolle bei Patienten mit Mammakarzinom. Erhöhte Konzentrationen im Serum oder Plasma können sowohl bei Brustkrebserkrankungen als auch bei Patienten mit sonstigen, benignen oder malignen Erkrankungen auftreten.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Allgemeinhinweise:

- Die Kalibrator- und Kontrollfläschchen sollten so kurz wie möglich geöffnet werden, um eine übermäßige Verdunstung zu vermeiden.
- Reagenzien aus Kits von verschiedenen Produktionsserien sollten nicht miteinander vermischt werden.
- Eine Standardkurve ist für jeden Assay notwendig.
- Die korrekte Einstellung des Schüttlers ist sehr wichtig für die Reproduzierbarkeit des Assays.
- Der Assay sollte in Doppelbestimmung durchgeführt werden.
- Jedes Röhrchen darf nur einmal verwendet werden.

Grundregeln der Handhabung von Radioaktivität

Annahme, Besitz und Verwendung, Lagerung, Transport und Beseitigung unterliegen den Vorschriften der Atomenergie- bzw. der jeweiligen staatlichen Behörde. Die Einhaltung der Grundregeln beim Umgang mit Radioaktivität sollte eine ausreichende Sicherheit gewährleisten:

- In Räumen, in denen mit radioaktiven Materialien gearbeitet wird, sollte Essen, Trinken, Rauchen und das Auftragen von Kosmetika vermieden werden.
- Keine Mundpipette verwenden.
- Direkter Kontakt mit radioaktiven Materialien sollte durch Tragen entsprechender Schutzkleidung (Laborkittel, Handschuhe) vermieden werden.
- Das Arbeiten mit radioaktiven Stoffen muß in dafür speziell gekennzeichneten Bereichen, die vom normalen Laborbetrieb abgetrennt sind, erfolgen.
- Radioaktive Materialien sollten in einem speziell gekennzeichneten Bereich gelagert werden.
- Ein Register der Eingänge und Lagerung aller radioaktiven Produkte sollte ständig aktualisiert werden.
- Kontaminierte Labor- und Glasgeräte sollten isoliert werden, um eine Kreuzkontamination von verschiedenen Radioisotopen zu verhindern.
- Kontaminationen des Arbeitsplatzes müssen unverzüglich sorgfältig nach den üblichen Verfahren entfernt werden.
- Radioaktiver Abfall muss entsprechend den Richtlinien jedes Einsatzortes entsorgt werden.

Natriumazid

Zur Vermeidung mikrobieller Kontamination enthalten einige Reagenzien Natriumazid. Natriumazid kann mit Blei, Kupfer oder Messing zu explosiven

PI-IM2397-B64314-03

Metallaziden reagieren. Um dies zu vermeiden, sollte bei einer Entsorgung über Rohrleitungen mit viel Wasser nachgespült werden.

Bestandteile menschlichen Ursprungs

Bestandteile menschlichen Ursprungs, die für diesen Kit verwendet wurden, sind auf HIV-1 und HIV-2 Antikörper, HCV Antikörper und Hepatitis B surface Antigen (HbsAg) getestet und als nicht reaktiv befunden wurden. Es ist so vorzugehen, als ob eine tatsächliche Ansteckungsgefahr bestünde. Keine Testmethode kann völlige Sicherheit bieten. Der Kit sollte mit allen notwendigen Sicherheitsvorkehrungen behandelt werden.

Mit allen Serum- und Plasmaproben ist so vorzugehen, als ob eine tatsächliche Ansteckungsgefahr für Hepatitis oder AIDS bestünde. Abfall sollte entsprechend den nationalen Richtlinien entsorgt werden.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Nicht als gefährlich eingestuft



Das Sicherheitsdatenblatt ist auf techdocs.beckmancoulter.com verfügbar.

PROBENENTNAHME, -BEHANDLUNG, -LAGERUNG UND VERDÜNNUNG

- Das Blut sollte in Röhrchen gesammelt werden, die entweder nichts oder EDTA enthalten.
- Trennen Sie Die Zellen vom Serum oder Plasma durch Zentrifugation.
- Serum- und Plasmaproben können bei 2-8 °C gelagert werden, wenn der Assay innerhalb von 24h durchgeführt wird. Für eine längere Lagerung sollte die Probe aliquotiert werden und eingefroren werden (< -20 °C; maximum 3 Monate). Wiederholtes Auftauen und Einfrieren sollte vermieden werden. Auftauen sollte bei Raumtemperatur stattfinden.
- Proben, die eine höhere Konzentration als der höchste Kalibrator sollten mit dem Verdünner verdünnt werden..

Die Serum- und EDTA-Plasmapwerte von 15 Proben (Serumwerte im Bereich zwischen 11,86 und 165,2 U/mL) wurden im IM2397 MUC-1 gene associated antigen Kit verglichen. Das Ergebnis lautet:

[Plasma-EDTA] = 1,1233 [Serum] - 1,1026

r = 0,9942

MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Die Reagenzien sind verwendbar bis zum Verfallsdatum, wenn sie bei 2-8 °C gelagert werden. Auf die Fläschchen gedruckte Verfallsdaten betreffen nur die Langzeitlagerung beim Hersteller, vor der Zusammensetzung des Kits. Bitte nicht beachten.

Kit für die Bestimmung von CA 15-3, 100 Röhrchen (Kat. #IM2397)

Röhrchen mit anti-CA15-3 Antikörpern beschichtet: 2 x 50 Röhrchen (gebrauchsfertig)

¹²⁵I-markierter monoklonaler Antikörper: eine 22 mL Flasche (gebrauchsfertig)

Die Flasche enthält 600 kBq (am Tag der Herstellung) des ¹²⁵I-markierten Immunglobulins in Puffer mit Bovinem Serum Albumin, Natriumazid (<0,1 %), und einem Farbstoff.

Kalibrators: vier 2 mL Flaschen + eine 4 mL Flasche Nullkalibrator (gebrauchsfertig)

Die Kalibratorflaschen enthalten zwischen 0 bis ungefähr 250 U/mL humanes CA 15-3 in Puffer mit Bovinem Serum Albumin und Natriumazid (<0,1 %). Die genauen Konzentrationen sind auf jedem Fläschchen angegeben. Die Kalibratoren wurden alle verifiziert an einem internen Referenzstandard.

Serumkontrolle: ein 1 mL Fläschchen (gebrauchsfertig)

Die Flasche enthält humanes CA 15-3 in humanem Serum mit Natriumazid (<0,1 %). Die erwarteten Werte finden Sie auf einem Beipackzettel. Nach dem Öffnen kann die Kontrolle für 2 Wochen bei 2-8 °C gelagert werden, für längere Lagerung bitte bei < -18 °C einfrieren.

Verdünner: eine 50 mL Flasche (gebrauchsfertig)

Die Flasche enthält Bovines Serum Albumin in Puffer. Nach der Öffnung sollte die Flasche bei 2-8 °C gelagert werden, bis zum Verfallsdatum.

Kit für die Bestimmung von CA 15-3, 50 Röhrcchen (Kat. #B64314)

Röhrcchen mit anti-CA15-3 Antikörpern beschichtet: 1 x 50 Röhrcchen (gebrauchsfertig)

¹²⁵I-markierter monoklonaler Antikörper: eine 22 mL Flasche (gebrauchsfertig)

Kalibrators: vier 2 mL Flaschen + eine 4 mL Flasche Nullkalibrator (gebrauchsfertig)

Serumkontrolle: ein 1 mL Fläschchen (gebrauchsfertig)

Verdünner: eine 50 mL Flasche (gebrauchsfertig)

ERFORDERLICHE, JEDOCH NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Zusätzlich zu der Standardlaborausstattung, werden die folgenden Materialien benötigt:

- Präzisionspipette (10 µL; 200 µL, 500 µL).
- automatische Mikropipetten (200 µL, 2 mL).
- Vortex-Mixer.
- Horizontal, oder Orbitalschüttler.
- Absaugsystem.
- Gamma-Counter für 125I.

ERGEBNISSE

Die Ergebnisse können durch Interpolation aus der Standardkurve, die im gleichen Ansatz bestimmt wurde, abgelesen werden.

Standardkurve

Die Ergebnisse wurden in der Abteilung für Qualitätskontrolle anhand einer *Spline*-Kurvenanpassung mit Radioaktivitätsbestimmung ($cpm_{K_{al}} - cpm_{K_{al0}}$) auf der logarithmischen vertikalen Achse und der Analytkonzentration der Kalibratoren auf der logarithmischen horizontalen Achse berechnet (U/mL).

Andere Datenreduktions-Methoden können zu leicht abweichenden Ergebnissen führen.

| Totalaktivität: 241 627 cpm | | | | |
|-----------------------------|----------------|-----------|---------|--------------------------------|
| Kalibratoren | CA 15-3 (U/mL) | cpm (n=3) | B/T (%) | $cpm_{K_{al}} - cpm_{K_{al0}}$ |
| 0 | 0 | 215 | 0,09 | - |
| 1 | 15 | 7 414 | 3,07 | 7 199 |
| 2 | 53 | 21 360 | 10,08 | 21 145 |
| 3 | 143 | 42 813 | 17,72 | 42 598 |
| 4 | 279 | 63 497 | 26,28 | 63 282 |

(Beispiel einer Standardkurve, nicht zur Berechnung benutzen)

Proben

Für jede Probe den cpm- oder B/T-Wert auf der vertikalen Achse ausfindig machen und die zugehörige Analytkonzentration auf der horizontalen Achse ablesen.

Die Konzentrationen der verdünnten Proben müssen um den Verdünnungsfaktor korrigiert werden.

Wichtig: Die Konzentrationsangabe auf den Kalibratorflaschen enthält schon den Umrechnungsfaktor für die 1:51 Verdünnung und muss daher korrigiert werden, falls unverdünnte Proben eingesetzt werden.

ERWARTETE WERTE

Jedes Labor sollte jedoch seinen eigenen Normalbereich in Gruppen von gesunden Testpersonen festlegen. Die hier angegebenen Werte dienen nur als Richtlinie.

| Anzahl der Probandinnen | Durchschnitt (x) | 95. Perzentil | 99. Perzentil |
|-------------------------|------------------|---------------|---------------|
| 160 | 20,3 U/mL | 36 U/mL | 43 U/mL |

Diagnostische Sensitivität: Zur Ermittlung der klinischen Anwendbarkeit wurden 170 Proben von nicht behandelten Mammakarzinom Patienten gemessen. Innerhalb dieser Population wurden 49 Proben mit Ergebnissen > 35 U/mL gemessen. Dieses entspricht einer klinischen Sensitivität des Markers von 28,8 % zum Zeitpunkt der Diagnose eines Mammakarzinoms.

QUALITÄTSKONTROLLE

Zur Einhaltung der Laborgrundregeln sollten regelmäßig Kontrollproben benutzt werden, um die Qualität der Ergebnisse zu sichern. Diese Proben

müssen in genau derselben Weise wie die Assayproben getestet werden, und die Analyse der Ergebnisse sollte mit angebrachten statistischen Methoden stattfinden.

Im Falle von Verpackungsschäden oder einer Leistungsbeeinträchtigung des Produkts, kontaktieren Sie bitte Ihren lokalen Vertreter oder benutzen Sie die folgende e-mail: imunochem@beckman.com

DURCHFÜHRUNG

Präparation der Reagenzien

Lassen Sie die Reagenzien vor Testbeginn Raumtemperatur annehmen.

Verdünnung der Proben und Kontrollen

Die zu bestimmenden Proben und Kontrollen 1/51 verdünnen durch die Zugabe von 10 µL jeder Probe zu 500 µL Diluent. Vorsichtig mischen.

KALIBRATOREN NICHT VERDÜNNEN!

Testdurchführung

Die Reagenzien sollten Raumtemperatur haben vor dem Pipettieren.

| Schritt 1 | Schritt 2 | Messung |
|--|--|--|
| In die Röhrcchen geben: 200 µL Kalibrator, verdünnte Proben oder Kontrollen. | Vorsichtig absaugen und zweimal mit 2 mL destilliertem Wasser waschen. | Vorsichtig absaugen und zweimal mit 2 mL destilliertem Wasser waschen. (außer der Totalaktivität). |
| | Vorsichtig absaugen und 200 µL Tracer in jedes Röhrcchen pipettieren. | Vorsichtig absaugen. |
| Vorsichtig vortexen. Für 2 Stunden bei 18-25 °C schütteln (>280 rpm). | Für 1 Stunde bei 18-25 °C schütteln (>280 rpm). | Gebundene cpm (B) und Totalaktivität (T) bestimmen. |

*Geben Sie je 200 µL Tracer in 2 zusätzliche Röhrcchen, um die Totalaktivität zu erhalten.

SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

(für mehr Details, siehe die Beilage "APPENDIX")

Repräsentative Daten dienen nur der Veranschaulichung. Die in einzelnen Labors erzielten Leistungen können anders ausfallen.

Empfindlichkeit

Analytische Sensitivität: 0,15 U/mL

Funktionelle Sensitivität: 5,34 U/mL

Spezifität: dieser Test ist spezifisch für CA15-3.

Präzision

Intra-assay:

Serumproben aus derselben Serie wurden 25-mal getestet. Der Variationskoeffizient war jeweils weniger oder gleich 6,2% für Serumproben.

Inter-assay:

Serumproben wurden in Doppelbestimmung in 25 verschiedenen Serien getestet. Der Variationskoeffizient war jeweils weniger oder gleich 8,4% für Serumproben.

Genauigkeit

Verdünnungstest

Hoch konzentrierte Proben wurden mit Verdünnungspuffer verdünnt. Die erhaltene Wiederfindung befindet sich zwischen 80,9% und 101%.

Wiederfindungstest

Schwach konzentrierte Serumproben wurden mit definierten Mengen CA 15-3 vermischt. Die erhaltene Wiederfindung befindet sich zwischen 86% und 108%.

Meßbereich (von der analytischen Sensitivität bis zum höchsten Kalibrator):

0,15 bis ungefähr 250 U/mL.

EINSCHRÄNKUNGEN

Die Nichtbeachtung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage kann die Ergebnisse signifikant beeinflussen. Die erhaltenen Ergebnisse sind vor

dem Hintergrund der gesamten klinischen Situation des Patienten unter Berücksichtigung seiner klinischen Vorgeschichte, den Ergebnissen anderer Testergebnisse sowie weiteren vorliegenden Informationen zu interpretieren.

Bei Assays, die Antikörper nutzen, besteht die Möglichkeit einer Störung durch in der Patientenprobe enthaltene heterophile Antikörper. Patienten, die regelmäßig mit Tieren in Kontakt kommen oder sich immuntherapeutischen oder -diagnostischen Verfahren unter Einsatz von Immunglobulinen oder Immunglobulin-Fragmenten unterzogen haben, können Antikörper bilden (wie bspw. HAMA), welche die Immunoassays stören.

Derartige störende Antikörper können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Die Ergebnisse von Patienten, bei denen das Vorliegen derartiger Antikörper zu vermuten ist, sind sorgfältig zu untersuchen.

Interferenzen

Der Assay wird nicht von Hämoglobin (5 mg/mL), Triglyceriden (30 mg/mL) oder Bilirubin (0,4 mg/mL) beeinflusst.

Hook effekt

Bei dem zwei-Schritt-Protokoll konnte kein Hook-Effekt beobachtet werden.

IRMA MUC-1 gene associated antigen (CA 15-3)

REF IM2397, B64314

KIT IMMUNORADIOMETRICO PER LA DETERMINAZIONE IN VITRO DEL MUC-1 GENE ASSOCIATED ANTIGEN (CA 15-3) IN SIERO E PLASMA UMANI

Per uso diagnostico *in vitro*.

PRINCIPIO

Il dosaggio del MUC-1 gene associated antigen CA 15-3 è un metodo immunoradiometrico tipo "sandwich" a due step. Nel kit sono utilizzati anticorpi monoclonali da topo, diretti contro due differenti epitopi del CA 15-3 e, quindi, non in competizione fra loro.

Campioni o calibratori vengono incubati in provette sensibilizzate con il primo anticorpo monoclonale. Al termine dell'incubazione le provette vengono aspirate e lavate; la presenza di CA 15-3 viene rivelata con l'aggiunta di un secondo anticorpo monoclonale, marcato con ¹²⁵I. Al termine della seconda incubazione le provette vengono aspirate e lavate per allontanare l'anticorpo marcato non legato. La radioattività legata alle provette, misurata con un contatore gamma, è direttamente proporzionale alla concentrazione di CA 15-3 in campioni e standard. La concentrazione di CA 15-3 nei campioni viene ricavata per interpolazione dalla curva standard.

Questo test è da utilizzarsi per il dosaggio dell'antigene CA 15-3 quale ausilio nella gestione di pazienti affette da cancro al seno. Si possono osservare concentrazioni elevate nel siero o nel plasma di pazienti affetti da patologie benigne o altre patologie non neoplastiche, così come nel cancro al seno e in altre patologie maligne.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Considerazioni generali:

- Aprire i flaconi dei calibratori e controlli nel più breve tempo possibile per evitarne l'eccessiva evaporazione.
- Non utilizzare reattivi di lotti diversi.
- Inserire la curva standard in ogni esperimento.
- per ottenere una migliore riproducibilità, è necessario programmare l'agitatore oscillante ogni volta alla stessa velocità.
- Eseguire il dosaggio in duplicato.
- Le provette sono monouso.

Norme di radioprotezione

L'acquisto, la detenzione, l'utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale. Lo scrupoloso rispetto delle norme per l'uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori.

- Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici.
- Non pipettare materiale radioattivo con pipette a bocca.
- Usare sempre guanti e camici da laboratorio quando si manipola materiale radioattivo.
- Tutte le manipolazioni di sostanze radioattive devono essere fatte in posti appropriati, lontano da corridoi ed altri posti affollati.
- 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.

Sodio azide

Alcuni reattivi contengono sodio azide come conservante, che può reagire con piombo, rame o ottone presenti nelle tubature di scarico per formare metallo-azidi esplosivi. Smaltire questi reattivi facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi.

Materiale di origine umana

Alcuni reattivi presenti nel kit sono di origine umana e si sono rivelati negativi per anticorpi anti HIV1 e HIV2, anticorpi anti HCV e antigene di superficie dell'epatite B (HbsAg). Questi reattivi devono essere manipolati come in grado di trasmettere malattie infettive. Non sono disponibili metodi in grado di offrire la certezza assoluta che questi o altri agenti infettivi siano assenti. Manipolare questi reattivi come potenziali fonti di infezioni.

Manipolare tutti i campioni di sangue come potenziali fonti di infezioni. (Ad es. epatite o AIDS). Eliminare i rifiuti secondo le normative vigenti.

CLASSIFICAZIONE PERICOLI GHS

Classificato non pericoloso

SDS

La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile su techdocs.beckmancoulter.com

RACCOLTA, MANIPOLAZIONE, DILUIZIONE E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

- Raccogliere i campioni in provette senza anticoagulante o in provette con EDTA.
- Separare per centrifugazione il siero o il plasma dalla parte corpuscolata.
- I campioni possono essere conservati fino a 24 ore a 2-8 °C o suddivisi in aliquote a -20 °C o a temperature inferiori per periodo più lunghi (fino ad 3 mesi). Evitare ripetuti cicli di congelamento/scongelo dei campioni. Lo scongelamento deve avvenire a temperatura ambiente.
- Diluire con il diluente i campioni con concentrazione superiore a quella dello calibratore a concentrazione maggiore.

Sono stati confrontati i valori di siero e di plasma-EDTA di 15 campioni (valori del siero compresi nel range da 11,86 a 165,2 U/mL), usando il kit IM2397 MUC-1 gene associated antigen. Sono stati ottenuti i risultati seguenti.

[Plasma-EDTA] = 1,1233 [siero] - 1,1026

r = 0,9942

MATERIALI FORNITI

I reattivi, conservati a 2-8 °C, sono stabili fino alla data di scadenza riportata sul kit. Le date di scadenza riportate sulle etichette di ciascun flacone si riferiscono alla conservazione dei reattivi stabilita in produzione, prima del loro inserimento nel kit.

Kit per il dosaggio del CA 15-3, 100 determinazioni (Cat. #IM2397)

Provette sensibilizzate con anticorpo anti-CA 15-3: 2 x 50 provette (pronte per l'uso).

Anticorpo monoclonale anti-CA 15-3-¹²⁵I: Un flacone (22 mL) (pronto per l'uso).

Il flacone contiene 600 kBq, alla data di marcatura, di un anticorpo monoclonale marcato con ¹²⁵I in tampone con BSA, sodio azide (<0,1%) e un colorante inerte.

Calibratori: quattro flaconi (2 mL) vials + un flacone di calibratore zero (4 mL) (pronti per l'uso).

I flaconi contengono CA 15-3 umano in concentrazioni comprese tra 0 e circa 250 U/mL in tampone con BSA, sodio azide (<0,1%). L'esatta concentrazione degli calibratori è riportata sulle etichette dei flaconi. Immediatamente dopo l'uso porre i flaconi a 2-8 °C; in queste condizioni gli calibratori sono stabili fino alla scadenza del kit. Gli calibratori sono calibrati contro uno standard interno di riferimento.

Siero di controllo: un flacone 1 mL (pronto per l'uso).

Il flacone contiene CA 15-3 umano in siero umano con sodio azide (<0,1%). L'intervallo dei valori attesi è indicato sul "supplemento". Immediatamente dopo l'uso porre il flacone a 2-8 °C; in queste condizioni il controllo è stabile 2 settimane. Per una stabilità prolungata nel tempo, conservare a -18 °C o a temperature inferiori.

Diluente: Un flacone (50 mL) (pronto per l'uso)

Il flacone contiene albumina bovina in tampone. Dopo l'apertura, conservare il flacone a 2-8 °C. In queste condizioni il diluente è stabile fino alla scadenza del kit.

Kit per il dosaggio del CA 15-3, 50 determinazioni (Cat. #B64314)

Provette sensibilizzate con anticorpo anti-CA 15-3: 1 x 50 provette (pronte per l'uso).

Anticorpo monoclonale anti-CA 15-3-¹²⁵I: Un flacone (22 mL) (pronto per l'uso).

Calibratori: quattro flaconi (2 mL) vials + un flacone di calibratore zero (4 mL) (pronti per l'uso).

Siero di controllo: un flacone 1 mL (pronto per l'uso).

Diluente: Un flacone (50 mL) (pronto per l'uso)

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Oltre alla normale attrezzatura da laboratorio, è richiesto il materiale seguente:

- micropipette di precisione (10 µL, 200 µL e 500 µL).
- pipette semi-automatiche (200 µL, 2 mL).
- agitatore tipo vortex.
- agitatore oscillante per provette.
- sistema di aspirazione.
- contatore gamma programmato per leggere 125I.

RISULTATI

Le concentrazioni di CA 15-3 in campioni e controlli vengono calcolate per interpolazione sulla curva standard. Campioni e controlli devono essere dosati insieme agli calibratori.

Curva standard

I risultati registrati dal reparto responsabile del controllo di qualità sono stati calcolati utilizzando l'adattamento della curva con metodo *spline* con radioattività determinata ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) sull'asse verticale logaritmico e la concentrazione di analiti dei calibratori sull'asse orizzontale logaritmico (U/mL).

Altri metodi di interpolazione dati possono dare risultati leggermente differenti.

| Attività totale: 241.627 cpm | | | | |
|------------------------------|----------------|-----------|---------|--------------------------|
| Calibratori | CA 15-3 (U/mL) | cpm (n=3) | B/T (%) | $cpm_{cal} - cpm_{cal0}$ |
| 0 | 0 | 215 | 0,09 | - |
| 1 | 15 | 7.414 | 3,07 | 7.199 |
| 2 | 53 | 21.360 | 10,08 | 21.145 |
| 3 | 143 | 42.813 | 17,72 | 42.598 |
| 4 | 279 | 63.497 | 26,28 | 63.282 |

(Esempio di curva standard. Non usare per calcolare il valore dei propri campioni)

Campioni

Per ogni campione, individuare il cpm o il valore B/T sull'asse verticale e leggere la concentrazione dell'analita corrispondente sull'asse orizzontale espressa.

Le concentrazioni di campioni diluiti devono essere corrette dal fattore di diluizione.

Nota: La concentrazione degli calibratori indicata sull'etichetta di ciascun flacone tiene conto della pre-diluizione di campioni e controllo. Non applicare nessun fattore di diluizione se non a campioni ulteriormente diluiti.

VALORI ATTESI

Ogni laboratorio deve stabilire i propri limiti di riferimento. Si prega di considerare solo come guida i valori sotto riportati, ottenuti da soggetti caratterizzati clinicamente.

| Numero di soggetti | Media (x) | 95° percentile | 99° percentile |
|--------------------|-----------|----------------|----------------|
| 160 | 20,3 U/mL | 36 U/mL | 43 U/mL |

Sensibilità diagnostica Nella valutazione dell'utilità clinica, sono stati presi in esame 170 campioni di pazienti con cancro della mammella non metastatico prima del trattamento. All'interno di questa popolazione, sono stati trovati 49 pazienti con valore superiore a 35 U/mL, corrispondente alla sensibilità clinica del 28,8% per questo marcatore al momento della diagnosi di cancro della mammella.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Si consiglia ad ogni laboratorio di dosare regolarmente sieri di controllo per verificare la qualità dei risultati ottenuti. Questi campioni devono essere manipolati esattamente come i campioni in esame; i risultati devono essere analizzati con metodi statistici appropriati.

In caso il kit fosse danneggiato o i dati ottenuti mostrino un'alterazione della performance, si prega di contattare il distributore locale o di scrivere al indirizzo e-mail seguente: imunochem@beckman.com

PROCEDURA

Preparazione dei reattivi

Portare i reattivi a temperatura ambiente.

Diluizione di campioni e controllo

Diluire 1:51 campioni e controllo aggiungendo in provette di polistirene o di vetro a 10 µL di campione o controllo 500 µL di diluente. Agitare delicatamente prima del dosaggio.

NON DILUIRE GLI CALBRATORI

Schema del dosaggio

Prima dell'uso lasciare equilibrare i reattivi a temperatura ambiente.

| Fase immunologica 1 | Fase immunologica 2 | Conteggio |
|---|---|---|
| Aggiungere in successione alle provette sensibilizzate: 200 µL di campioni, controllo diluiti o calibratori Agitare | Aspirare con cura il contenuto di ogni provetta. Lavare 2 volte con 2 mL di acqua distillata. | Aspirare il contenuto di ogni provetta (tranne in quelle per il controllo dell'attività totale) Lavare 2 volte con 2 mL di acqua distillata |
| | Aggiungere 200 µL di marcato. | Aspirare |
| Agitare. Incubare 2 ore a 18-25 °C in agitazione (>280 rpm). | Incubare 1 ora a 18-25 °C in agitazione (>280 rpm). | Contare la radioattività legata (B) e l'attività totale (T) per 1 minuto |

*Aggiungere 200 µL di marcato a 2 provette per la determinazione dell'attività totale.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

(Vedi ulteriori dati riportati in « Appendice »)

Vengono forniti dati rappresentativi a mero scopo illustrativo. I risultati possono variare da laboratorio a laboratorio.

Sensibilità

Sensibilità analitica: 0,15 U/mL

Sensibilità funzionale: 5,34 U/mL

Specificità: L'anticorpo utilizzato nel kit è altamente specifico per il CA 15-3.

Precisione

Intra-saggio:

Alcuni campioni di siero sono stati analizzati 25 volte in uno stesso esperimento; è stato trovato un coefficiente di variazione del 6,2% o inferiore.

Inter-saggio:

Alcuni campioni di siero sono stati analizzati in duplicato in 25 esperimenti differenti. Per i campioni di siero è stato trovato un coefficiente di variazione del 8,4% o inferiore.

Accuratezza

Test di diluizione

Alcuni campioni ad alta concentrazione di CA 15-3 sono stati diluiti con diluizioni seriali con il diluente. Il recupero è risultato essere compreso tra 80,9% e 101%.

Test di recupero

Ad alcuni campioni di siero a bassa concentrazione di CA 15-3 sono state aggiunte quantità note di CA 15-3. Il recupero è risultato essere compreso tra 86% e 108%.

Campo di misura (è compreso tra la concentrazione della sensibilità analitica alla concentrazione del calibratore più elevato):

0,15 e circa 250 U/mL.

LIMITAZIONI

Rispettare accuratamente le istruzioni d'uso per evitare risultati aberranti. I risultati ottenuti con questo dosaggio devono essere interpretati alla luce del quadro clinico, insieme ai dati clinici e ad altri dati di laboratorio o strumentali.

Nei test anticorpali, esiste la possibilità di interferenza degli anticorpi eterofili presenti nei campioni dei pazienti. I pazienti regolarmente a contatto con animali o sottoposti a immunoterapia o a procedure diagnostiche a base di immunoglobuline o frammenti di immunoglobuline possono produrre anticorpi, p.e. HAMA, che interferiscono con gli immunodosaggi.

Tali anticorpi interferenti possono portare a risultati errati. Valutare attentamente i risultati di pazienti che potrebbero presentare questi anticorpi.

Sostanze interferenti

Il dosaggio non è influenzato da alti livelli di emoglobina (5 mg/mL), trigliceridi (30 mg/mL) e bilirubina (0,4 mg/mL).

Effetto hook

Non c'è alcuno effetto hook in questo dosaggio, poiché si usa una metodica a due step.

IRMA MUC-1 gene associated antigen (CA 15-3)

REF IM2397, B64314

ANÁLISIS INMUNORADIOMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN IN VITRO DEL ANTIGENO ASOCIADO AL GEN MUC-1 (CA 15-3) EN SUERO HUMANO Y PLASMA

Para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO

El análisis del antígeno asociado al gen muc-1 (CA 15-3) es un análisis tipo "sandwich" de dos pasos, donde se emplean dos anticuerpos monoclonales dirigidos contra dos epítomos diferentes de la molécula.

Las muestras y los calibradores se incuban en tubos recubiertos con el primer anticuerpo. El contenido de los tubos se aspira y la presencia de CA 15-3 en la muestra se detecta por incubación con el segundo anticuerpo monoclonal marcado con I^{125} . Se aspira el contenido de los tubos después de la segunda incubación y estos se lavan para retirar el anticuerpo no enlazado marcado con I^{125} . La cantidad de radioactividad enlazada medida en un contador gamma es proporcional a la concentración de CA 15-3. Los valores desconocidos de las muestras son obtenidas por interpolación a partir de una curva estándar.

Este dispositivo está diseñado para medir el antígeno CA 15-3 para ayudar en el diagnóstico y tratamiento de control de los pacientes con cáncer de mama. Pueden observarse concentraciones elevadas en el suero o plasma de pacientes con afecciones benignas u otros trastornos no cancerosos así como el cáncer de mama y otras enfermedades malignas.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Precauciones generales

- Los viales de los calibradores y controles deben ser abiertos durante el menor tiempo posible, para así evitar evaporaciones excesivas.
- No mezclar los reactivos de lotes diferentes.
- Incluir una curva estándar en cada ensayo.
- La calibración correcta del Agitador es muy importante para la reproducibilidad del análisis.
- Se recomienda realizar el ensayo por duplicado.
- Cada tubo debe estar utilizado solamente una vez.

Reglas básicas de seguridad radiológica

La compra, posesión, uso y transferencia de material radiactivo están sujetos de las disposiciones legales del país en el que se utiliza. El cumplimiento de las normas básicas de seguridad radiológica proporciona una protección adecuada.

- No se debe comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en presencia de materiales radiactivos.
- No pipetear las soluciones radiactivas con la boca.
- Evitar cualquier contacto con materiales radiactivos mediante el uso de guantes y bata de laboratorio.
- Toda manipulación de material radiactivo debe realizarse en el lugar adecuado, alejado de corredores y espacios ocupados.
- Los materiales radiactivos deben almacenarse en el contenedor aprobado en una zona especializada.
- Se debe llevar y conservar actualizado un registro de las entradas y almacenamiento de todos los productos radiactivos.
- El equipo y material de vidrio de laboratorio que son objeto de contaminación se deben separar para evitar la contaminación con otros radioisótopos.
- Cada caso de contaminación radiactiva, o de pérdida de materiales radiactivos se debe resolver de acuerdo con los procedimientos establecidos.
- El desecho radiactivo debe manipularse de acuerdo a las reglas establecidas por el país donde se utiliza.

Azida de sodio

Algunos reactivos contienen azida de sodio como conservante. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo, el cobre y el bronce para formar azidas metálicas explosivas. Deseche los reactivos a través del sistema de drenaje mediante lavado con grandes cantidades de agua.

Material de origen humano

Los reactivos de este equipo son de origen humano y fueron negativos a las pruebas de HIV 1, de HIV 2; de HCV, así como de hepatitis B (Hbs Ag). Sin embargo, deben manejarse como si fueran capaces de transmitir enfermedad. Ninguna prueba conocida puede ofrecer la seguridad completa de la ausencia de agentes virulentos. Maneje estos reactivos con todas las precauciones necesarias.

Todas las muestras de sangre deben manejarse como si fueran capaces de transmitir enfermedades (ej. hepatitis o SIDA). Los desperdicios deben eliminarse según los reglamentos nacionales actuales.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

No clasificado como tóxico



La hoja de datos de seguridad está disponible en techdocs.beckmancoulter.com

RECOLECCIÓN, PROCESAMIENTO, ALMACENAMIENTO Y DILUCIÓN DE LAS MUESTRAS

- Recolectar la sangre en tubos secos o en tubos que contengan EDTA.
- Separar el suero o el plasma de las células mediante centrifugación.
- Las muestras séricas o plasmáticas pueden almacenarse a 2-8 °C si el análisis es realizado en 24 horas sino es preferible conservarlas congeladas, preferentemente en alícuotas (< -20 °C, 3 meses máximo). Con el fin de evitar congelaciones y descongelaciones sucesivas. La descongelación de las muestras debe realizarse a temperatura ambiente.
- Si las muestras presentan una concentración mayor al calibrador más alto, diluirlas con el diluyente.

Se compararon los valores en suero y plasma con EDTA de 15 muestras (valores séricos de 11,86 a 165,2 U/mL) utilizando el equipo IM2397 MUC-1 gene associated antigen. Los resultados fueron los siguientes:

[Plasma con EDTA] = 1,1233 [suero] - 1,1026

$r = 0.9942$

MATERIALES PROPORCIONADOS

Todos los reactivos son estables entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad del equipo indicada en las etiquetas. Las fechas de caducidad impresas sobre las etiquetas de los frascos son válidas sólo para el fabricante, durante su almacenamiento a largo plazo hasta antes del ensamblaje del equipo. No tener en cuenta.

Equipo para la determinación de CA 15-3 100 tubos (Cat. #IM2397)

Tubos recubiertos con anticuerpo Anti-CA 15-3: 2 x 50 tubos (listos para su uso).

Anticuerpo monoclonal marcado con I^{125} : un frasco de 22 mL (listo para su uso).

El frasco contiene 600 kBq de anticuerpo monoclonal marcado con I^{125} (en la fecha de fabricación) en forma líquida con albumina de suero bovino, azida de sodio (< 0,1 %), y un colorante.

Calibradores: cuatro frascos de 2 mL y un frasco de "calibrador Cero" de 4 mL (listos para su uso).

Los frascos de los calibradores contienen desde 0 hasta aproximadamente 250 U/mL de CA 15-3 en en buffer proteico (albumina de suero bovino) y azida de sodio (< 0,1 %). Las concentraciones exactas se indican en las etiquetas de los frascos. Después de abiertos, almacenar los frascos entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad del equipo. Los calibradores están verificados a través de un estándar de referencia interno.

Suero control: un frasco de 1 mL (listo para su uso)

El frasco contiene CA 15-3 en suero humano con azida de sodio (<0,1 %). La concentración exacta se indica en la hoja suplemento. Después de abierto, almacenar el frasco entre 2 y 8 °C durante dos semanas. Para periodos mayores, congelar a < -18 °C.

Diluyente: un frasco de 50 mL (listo para su uso)

El frasco contiene amortiguador con albumina de suero bovino. Después de abierto, almacenar el frasco entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad del equipo.

Equipo para la determinación de CA 15-3 50 tubos (Cat. #B64314)

Tubos recubiertos con anticuerpo Anti-CA 15-3: 1 x 50 tubos (listos para su uso).

Anticuerpo monoclonal marcado con ¹²⁵I: un frasco de 22 mL (listo para su uso).

Calibradores: cuatro frascos de 2 mL y un frasco de "calibrador Cero" de 4 mL (listos para su uso).

Suero control: un frasco de 1 mL (listo para su uso)

Diluyente: un frasco de 50 mL (listo para su uso)

MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

Además del equipo normal de laboratorio se requiere lo siguiente:

- Micropipetas de precisión (10 µL, 200 µL, 500 µL).
- Pipeta semiautomática (200 µL; 2 mL).
- mezclador tipo "Vortex".
- Agitador horizontal u orbital.
- sistema de aspiración.
- contador gamma.

RESULTADOS

Los resultados se obtienen por interpolación con la curva estándar. La curva sirve para determinar la concentración del CA 15-3 en las muestras medidas al mismo tiempo que los calibradores.

Curva estándar

Los resultados del departamento de control de calidad se calcularon usando el ajuste de curva *spline* con radioactividad determinada ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) en el eje logarítmico vertical y la concentración de analitos de los calibradores en el eje logarítmico horizontal (U/mL).

Otros métodos de reducción de datos pueden dar resultados ligeramente diferentes.

| Actividad total: 241 627 cpm | | | | |
|------------------------------|----------------|-----------|---------|--------------------------|
| Calibradores | CA 15-3 (U/mL) | cpm (n=3) | B/T (%) | $cpm_{cal} - cpm_{cal0}$ |
| 0 | 0 | 215 | 0,09 | - |
| 1 | 15 | 7414 | 3,07 | 7199 |
| 2 | 53 | 21 360 | 10,08 | 21 145 |
| 3 | 143 | 42 813 | 17,72 | 42 598 |
| 4 | 279 | 63 497 | 26,28 | 63 282 |

(Ejemplo de curva estándar, no utilizar para los cálculos)

Muestras

En cada muestra, localice los cpm o el valor B/T del eje vertical y lea la concentración del analito correspondiente en el eje horizontal.

Las concentraciones de muestras diluidas deben corregirse con el factor de dilución.

Nota: La concentración indicada en cada etiqueta del frasco calibrador considera la predilución 1:51, la cual no debe considerarse al calcular la concentración en una muestra sin diluir.

VALORES ESPERADOS

Se aconseja a cada laboratorio establecer sus propios valores de referencia. Los valores siguientes, determinados sobre sujetos presuntamente sanos, son dados a título indicativo:

| Número de individuos | Media (x) | 95 percentil | 99 percentil |
|----------------------|-----------|--------------|--------------|
| 160 | 20,3 U/mL | 36 U/mL | 43 U/mL |

Sensibilidad diagnóstica Para evaluar la utilidad clínica, fueron analizadas 170 muestras de pacientes con cáncer de mama sin metástasis, previo a cualquier tratamiento. Dentro de esta población, se encontraron valores superior a 35 U/mL en 49 pacientes. Este valor corresponde a una sensibilidad clínica del marcador del 28,8 % en ese momento del diagnóstico del cáncer de mama

CONTROL DE CALIDAD

La obtención de unos resultados óptimos implica la utilización de los sueros control en cada serie de experimentos para asegurar la calidad de los

resultados obtenidos. Dichos controles deben ser procesados de la misma manera que las muestras a analizar. Se recomienda que los resultados sean analizados utilizando los métodos estadísticos apropiados.

En caso de detectar un deterioro en el emvasado del producto ó que los resultados expresen una alteración en las características del mismo, contactar con el Distribuidor local ó notificar a la dirección de e-mail: imunochem@beckman.com

PROCEDIMIENTO

Preparación de los reactivos

Equilibrar los reactivos a la temperatura ambiente.

Dilución de las muestras y controles

Diluir 1/51 las muestras y controles a analizar, añadiendo en tubos de vidrio o plástico 10 µL de las muestras o controles y 500 µL del diluyente. Agitar vigorosamente antes del análisis.

NO DILUIR LOS CALIBRADORES

Procedimiento del ensayo

Permitir que los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de su uso.

| Paso Inmunológico1 | Paso Inmunológico2 | Contaje |
|---|---|---|
| A los tubos recubiertos de anticuerpo agregar: 200 µL del calibrador, de la muestra diluida o del control diluido | Aspirar cuidadosamente el contenido de los tubos, y lavar dos veces con 2 mL de agua destilada. | Aspirar cuidadosamente el contenido de los tubos, y lavar dos veces con 2 mL de agua destilada. (excepto el de los 2 tubos " cpm total ") |
| | Aspirar cuidadosamente luego adicionar 200 µL de trazador en cada tubo* | Aspirar cuidadosamente |
| Incubar 2 hrs entre 18-25 °C en agitación (>280 rpm). | Incubar 1 hr entre 18-25 °C con agitación (>280 rpm). | Contar las cpm enlazadas (B) y los cpm totales (T) durante 1 minuto |

*Agregue 200 µL de trazador a 2 tubos adicionales para obtener las cpm totales.(T).

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

(ver la hoja "APPENDIX" para más detalles)

Se facilitan datos representativos solo a modo de ejemplo. El rendimiento obtenido en los distintos laboratorios puede variar.

Sensibilidad

Sensibilidad Analítica: 0,15 U/mL

Sensibilidad funcional: 5,34 U/mL

Especificidad: El equipo es específico para el CA 15-3.

Precisión

Intra-ensayo:

Las muestras del suero se evaluaron 25 veces en las mismas series. Los coeficientes de variación fueron iguales o por debajo de 6,2%.

Inter-ensayos:

Las muestras del suero se evaluaron por duplicado en 25 series diferentes. Los coeficientes de variación fueron iguales o por debajo de 8,4%.

Precisión

Prueba de dilución

Las muestras del suero muy concentradas se diluyeron serialmente con el diluyente. Los porcentajes recuperados fueron entre 80,9% y 101%.

Prueba de recuperación

A las muestras del suero de baja concentración se adicionaron concentraciones conocidas de CA 15-3. Los porcentajes recuperados fueron entre 86% y 108%.

Rango de medida (a partir de la sensibilidad analítica del calibrador más alto):

0,15 hasta aproximadamente 250 U/mL.

LIMITACIONES

El no respetar las instrucciones de uso puede afectar significativamente a los resultados. Los resultados deben ser interpretados con la luz de la presentación clínica total del paciente, incluyendo su historia clínica, los datos de pruebas adicionales y las otras informaciones apropiadas.

En los ensayos en los que se utilizan anticuerpos existe la posibilidad de que se produzcan interferencias debido a la presencia de anticuerpos heterófilos en la muestra del paciente. Los pacientes que hayan estado en contacto regularmente con animales o hayan recibido inmunoterapia o procedimientos diagnósticos con inmunoglobulinas o fragmentos de

inmunoglobulinas pueden producir anticuerpos, p.ej. HAMA, que interfieren con los inmunoensayos.

Esos anticuerpos que crean interferencias pueden causar resultados erróneos. Evaluar cuidadosamente los resultados de los pacientes que se sospeche que puedan tener esos anticuerpos.

Interferencias

El análisis no se ve afectado por presencia de hemoglobina (5 mg/mL), triglicéridos (30 mg/mL) y bilirrubina (0,4 mg/mL).

Efecto gancho

No se observó efecto hook en el análisis de dos pasos utilizado.

IRMA MUC-1 gene associated antigen (CA 15-3)

REF IM2397, B64314

ΑΝΟΣΟΡΑΔΙΟΜΕΤΡΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΓΙΑ ΤΟΝ IN VITRO ΠΟΣΟΤΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΟΥ ΣΥΝΔΕΔΕΜΕΝΟΥ ΜΕ ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ MUC-1 ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ (CA 15-3) ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΟ ΚΑΙ ΠΛΑΣΜΑ Για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Η ανοσοραδιομετρική εξέταση του συνδεδεμένου με το γονίδιο MUC-1 αντιγόνου (CA 15-3) είναι εξέταση τύπου σάντουιτς δύο βημάτων, στην οποία χρησιμοποιούνται δύο μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού που κατευθύνονται κατά δύο διαφορετικών επιτόπων του μορίου.

Τα δείγματα ή τα βαθμονομητές επωάζονται σε σωληνάρια επιστρωμένα με το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα, τα περιεχόμενα των σωληναρίων αποχύνονται και η παρουσία του CA 15-3 στο δείγμα αποκαλύπτεται με επώαση υπό την παρουσία του δεύτερου μονοκλωνικού αντισώματος, που είναι επισημασμένο με ¹²⁵I. Τα περιεχόμενα των σωληναρίων αποχύνονται μετά από αυτή τη δεύτερη επώαση και το μη δεσμευμένο επισημασμένο αντίσωμα απομακρύνεται με πλύσιμο. Η ποσότητα της δεσμευμένης ραδιενέργειας που μετράται σε gamma counter είναι ευθέως ανάλογη της συγκέντρωσης του CA 15-3. Οι άγνωστες τιμές προσδιορίζονται με παρεμβολή σε πρότυπη καμπύλη.

Η παρούσα συσκευή ενδείκνυται για χρήση στην μέτρηση του αντιγόνου CA15-3 για να βοηθήσει στην διαχείριση ασθενών με καρκίνο του μαστού. Αυξημένες συγκεντρώσεις μπορεί να παρατηρηθούν στον ορό ή στο πλάσμα ασθενών με καλοήθεις καταστάσεις ή άλλες μη καρκινικές διαταραχές, καθώς και στον καρκίνο του μαστού και σε άλλες κακοήθεις νόσους.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Γενικές παρατηρήσεις:

- Τα φιαλίδια των ορών βαθμονόμησης και των ορών ελέγχου πρέπει να ανοίγονται όσο το δυνατόν λιγότερο, προς αποφυγήν εξατμίσεως του περιεχομένου.
- Μην ανακατεύετε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες.
- Κάνετε ταυτόχρονα την πρότυπη καμπύλη και τον ποσοτικό προσδιορισμό των δειγμάτων.
- Η σωστή ρύθμιση του σέικερ είναι απαραίτητη για την αναπαραγωγισιμότητα του ποσοτικού προσδιορισμού.
- Σας συστήνεται να πραγματοποιείτε δύο φορές τον κάθε προσδιορισμό.
- Κάθε σωληνάριο πρέπει να χρησιμοποιηθεί μόνο μια φορά.

Προστασία από την ιονίζουσα ακτινοβολία

Η αγορά, η κατοχή, η χρήση και η μεταφορά του ραδιενεργού υλικού υπόκεινται στους κανονισμούς της χώρας στην οποία το υλικό αυτό χρησιμοποιείται. Η συμμόρφωση με τους βασικούς κανόνες ασφάλειας από την ακτινοβολία παρέχει επαρκή προστασία.

- Υπό την παρουσία ραδιενεργών υλικών, μην καταναλώνετε τρόφιμα ή ποτά, μην καπνίζετε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά.
- Μη χρησιμοποιείτε το στόμα για να πιπετάρετε τα ραδιενεργά υλικά.
- Αποφύγετε κάθε άμεση επαφή με τα ραδιενεργά υλικά, και χρησιμοποιείτε γάντια και εργαστηριακή ποδιά.
- Κάθε χειρισμός ραδιενεργού υλικού πρέπει να γίνεται σε κατάλληλο χώρο, μακριά από διαδρόμους και άλλα πολυσύχναστα μέρη.
- Το αρχείο παραλαβής και αποθήκευσης ραδιενεργών υλικών πρέπει να είναι πάντα ενημερωμένο.
- Το αρχείο παραλαβής και αποθήκευσης ραδιενεργών υλικών πρέπει να είναι πάντα ενημερωμένο.
- Ο εργαστηριακός εξοπλισμός ή τα γυάλινα σκεύη που έχουν μολυνθεί από ραδιενεργά υλικά πρέπει να απομονώνονται, προκειμένου να αποφευχθεί μόλυνση από διαφορετικά ραδιοϊσότοπα.
- Κάθε περίπτωση ραδιενεργής μόλυνσης ή απώλειας ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να επιλύεται με βάση τις ισχύουσες διαδικασίες.
- Ο χειρισμός των ραδιενεργών αποβλήτων πρέπει να ακολουθεί τους κανονισμούς της χώρας στην οποία χρησιμοποιείται το ραδιενεργό υλικό.

Αζίδιο του Νατρίου

Κάποια αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο του Νατρίου ως συντηρητικό. Το αζίδιο του Νατρίου μπορεί να αντιδράσει με το χαλκό ή το μόλυβδο προς το σχηματισμό εκρηκτικών αζιδίων των μετάλλων. Η απόρριψη των αντιδραστηρίων πρέπει να γίνεται μέσα από το υδραυλικό σύστημα, χρησιμοποιώντας μεγάλες ποσότητες νερού.

Υλικό ανθρώπινης προέλευσης

Τα ανθρώπινης προέλευσης υλικά που περιέχονται στα αντιδραστήρια του kit βρέθηκαν αρνητικά, σε ότι αφορά στα αντισώματα αντι-HIV 1 και HIV 2, στα αντισώματα HCV και το επιφανειακό αντιγόνο της Ηπατίτιδας Β (HbsAg). Παρόλα αυτά, ο χειρισμός τους πρέπει να γίνεται σαν να ήταν ικανά να μεταδώσουν τις ασθένειες. Δεν υπάρχει κάποια γνωστή μέθοδος ελέγχου που να διασφαλίζει με απόλυτη βεβαιότητα ότι δεν υπάρχει παράγοντας μόλυνσης, γι' αυτόν τον λόγο είναι απαραίτητο να λαμβάνονται προφυλάξεις κατά τη διάρκεια του χειρισμού.

Όλα τα δείγματα ορού και πλάσματος πρέπει να τα χειρίζεστε ως ικανά να μεταδώσουν ηπατίτιδα ή AIDS. Τα απόβλητα πρέπει να απορριφθούν σύμφωνα με την εγχώρια νομοθεσία.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ ΠΕΣ

Δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο



Το Δελτίο δεδομένων ασφάλειας είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση techdocs.beckmancoulter.com

ΣΥΛΛΟΓΗ, ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ, ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΑΡΑΙΩΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- Συλλέξτε το αίμα σε στεγνά σωληνάρια, ή σε σωληνάρια που περιέχουν EDTA.
- Διαχωρίστε τον ορό ή το πλάσμα από τα κύτταρα με φυγοκέντρηση.
- Τα δείγματα ορού ή πλάσματος μπορούν να διατηρηθούν στους 2-8 °C, αν η εξέταση πρόκειται να γίνει σε 24 ώρες. Για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα, είναι προτιμότερο να διατηρούνται στην κατάψυξη (σε θερμοκρασία χαμηλότερη των -20 °C; 3 μήνες) και κατά προτίμηση χωρισμένα σε μικρότερες ποσότητες, ώστε να αποφεύγεται η επαναλαμβανόμενη κατάψυξη και απόψυξη. Η απόψυξη των δειγμάτων πρέπει να γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου.
- Αραιώστε τα δείγματα που εμφανίζουν μεγαλύτερη συγκέντρωση από το βαθμονομητής με την υψηλότερη συγκέντρωση με το αραιωτικό μέσο του kit.

Τιμές ορού και EDTA πλάσματος από 15 δείγματα (δείγματα ορού κυμαίνονται από 11.86 μέχρι 165,2 U/mL) συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας IM2397 MUC-1 gene associated antigen αντιδραστήριο. Τα αποτελέσματα παραθέτονται παρακάτω:

[πλάσμα] = 1,1233 [ορός] - 1,1026

r = 0.9942

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

Όλα τα αντιδραστήρια είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του kit, όταν αποθηκεύονται σε θερμοκρασία 2-8 °C. Οι ημερομηνίες λήξης που αναγράφονται στις ετικέτες των φιαλιδίων αφορούν αποκλειστικά στη μακροπρόθεσμη αποθήκευση των αντιδραστηρίων από τον κατασκευαστή, πριν από τη συναρμολόγηση του kit. Να μη λαμβάνονται υπόψη.

Kit για τον προσδιορισμό της CA 15-3: 100 σωληνάρια (αρ. κατ. IM2397)

Σωληνάρια επιστρωμένα με αντίσωμα κατά του CA 15-3: 2 x 50 σωληνάρια (έτοιμα προς χρήση)

Μονοκλωνικό αντίσωμα επισημασμένο με ¹²⁵I: 1 φιαλίδιο των 22 mL (έτοιμο προς χρήση)

Το φιαλίδιο περιέχει, την ημέρα που παρασκευάζεται, 600 kBq επισημασμένου με ¹²⁵I μονοκλωνικού αντισώματος, σε υγρή μορφή με αλμπουμίνη βοδινού ορού, αζίδιο του Νατρίου (<0,1%) και μια χρωστική.

Βαθμονομητές: 4 φιαλίδια των 2 mL και 1 φιαλίδιο μηδενικού βαθμονομητής των 4 mL (έτοιμα προς χρήση)

Τα βαθμονομητές φιαλίδια περιέχουν από 0 μέχρι κατά προσέγγιση 250 U/mL ανθρώπινου CA 15-3 σε ρυθμιστικό που περιέχει αλμπουμίνη βοδινού ορού και αζίδιο του Νατρίου (<0,1%). Η ακριβής συγκέντρωση αναγράφεται στην ετικέτα κάθε φιαλιδίου. Μετά το άνοιγμα, τα φιαλίδια μπορούν να αποθηκευθούν στους 2-8 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης του kit. Οι βαθμονομητές έχουν επιβεβαιωθεί με δικό μας πρότυπο αναφοράς.

Ορός ελέγχου: 1 φιαλίδιο του 1 mL (έτοιμο προς χρήση)

Το φιαλίδιο περιέχει ανθρώπινο CA 15-3 σε ανθρώπινο ορό με αζίδιο του Νατρίου (<0,1%). Η αναμενόμενη τιμή κυμαίνεται μεταξύ των συγκεντρώσεων που αναγράφονται σε επιπλέον φυλλάδιο. Όταν ανοιχτεί, το φιαλίδιο μπορεί να αποθηκευτεί στους 2-8 °C για 2 εβδομάδες. Για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα, καταψύξτε σε θερμοκρασία χαμηλότερη των -18 °C.

Αραιωτικό μέσο: 1 φιαλίδιο των 50 mL (έτοιμο προς χρήση)

Το φιαλίδιο περιέχει αλμπουμίνη βοδινού ορού σε ρυθμιστικό. Μετά το άνοιγμα, το φιαλίδιο διατηρείται στους 2-8 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης του kit.

Kit για τον προσδιορισμό της CA 15-3: 50 σωληνάρια (αρ. κατ. B64314)

Σωληνάρια επιστρωμένα με αντίσωμα κατά του CA 15-3: 1 x 50 σωληνάρια (έτοιμα προς χρήση)

Μονοκλωνικό αντίσωμα επισημασμένο με ¹²⁵I: 1 φιαλίδιο των 22 mL (έτοιμο προς χρήση)

Βαθμονομητές: 4 φιαλίδια των 2 mL και 1 φιαλίδιο μηδενικού βαθμονομητή των 4 mL (έτοιμα προς χρήση)

Ορός ελέγχου: 1 φιαλίδιο του 1 mL (έτοιμο προς χρήση)

Αραιωτικό μέσο: 1 φιαλίδιο των 50 mL (έτοιμο προς χρήση)

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Ο απαιτούμενος εργαστηριακός εξοπλισμός, επιπλέον του συνήθους, είναι ο εξής:

- μικροπιπέτες ακριβείας (10 μL, 200 μL, 500 μL)
- επαναληπτικές μικροπιπέτες (200 μL, 2 mL).
- Μίξερ τύπου "Vortex".
- Shaker με οριζόντια πλατφόρμα παλινδρόμησης ή με πλατφόρμα ταλάντωσης.
- Σύστημα απόχυσης.
- Gamma counter.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα των δειγμάτων υπολογίζονται με παρεμβολή στην πρότυπη καμπύλη. Η καμπύλη χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων CA 15-3 δειγμάτων που μετρώνται ταυτόχρονα με το βαθμονομητή.

Πρότυπη καμπύλη

Τα αποτελέσματα στο τμήμα ποιοτικού ελέγχου υπολογίστηκαν μέσω προσαρμογής της καμπύλης *spline* με την προσδιορισθείσα ραδιενέργεια ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) στον κατακόρυφο άξονα και τη συγκέντρωση των βαθμονομητών στον οριζόντιο άξονα (U/mL) της λογαριθμικής κλίμακας.

Άλλες μέθοδοι αναγωγής των δεδομένων μπορεί να δώσουν ελαφρώς διαφορετικά αποτελέσματα.

| Ολική ραδιενέργεια: 241.627 cpm | | | | |
|---------------------------------|----------------|-----------|---------|--------------------------|
| Βαθμονομητές | CA 15-3 (U/mL) | cpm (n=3) | B/T (%) | $cpm_{cal} - cpm_{cal0}$ |
| 0 | 0 | 215 | 0,09 | - |
| 1 | 15 | 7.414 | 3,07 | 7.199 |
| 2 | 53 | 21.360 | 10,08 | 21.145 |
| 3 | 143 | 42.813 | 17,72 | 42.598 |
| 4 | 279 | 63.497 | 26,28 | 63.282 |

(Παράδειγμα πρότυπης καμπύλης, να μη χρησιμοποιηθεί σε υπολογισμούς)

Δείγματα

Για κάθε δείγμα, εντοπίστε την τιμή cpm ή B/T στον κατακόρυφο άξονα και διαβάστε την αντίστοιχη συγκέντρωση της αναλυόμενης ουσίας στον οριζόντιο άξονα.

Οι συγκεντρώσεις των αραιωμένων δειγμάτων πρέπει να διορθώνονται με τη χρήση του συντελεστή αραιώσης.

Σημείωση: η συγκέντρωση που αναγράφεται στην ετικέτα κάθε προτύπου φιαλιδίου λαμβάνει ήδη υπόψη την προαραίωση 1:51, η οποία πρέπει επομένως να αγνοηθεί στη συνέχεια κατά τον υπολογισμό της συγκέντρωσης ενός μη αραιωμένου δείγματος.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Προτείνουμε το κάθε εργαστήριο να καθιερώσει τις δικές του τιμές αναφοράς. Οι τιμές που ακολουθούν προέκυψαν από υγιή άτομα και είναι απλώς ενδεικτικές.

| Αριθμός ανθρώπων | Μέσος όρος (x) | 95ο εκατοστ. τημόριο | 99ο εκατοστ. τημόριο |
|------------------|----------------|----------------------|----------------------|
| 160 | 20,3 U/mL | 36 U/mL | 43 U/mL |

Διαγνωστική ευαισθησία Για να εκτιμηθεί η κλινική χρησιμότητα του kit εξετάστηκαν 170 δείγματα ασθενών με μη μεταστατικό καρκίνου του μαστού πριν από οποιαδήποτε θεραπεία. Σε αυτόν τον πληθυσμό τιμές πάνω από 35 U/mL βρέθηκαν σε 49 ασθενείς. Αυτό αντιστοιχεί σε κλινική ευαισθησία του δείκτη 28,8% κατά την διάγνωση του καρκίνου του μαστού.

ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Η σωστή εργαστηριακή πρακτική προϋποθέτει την τακτική χρήση δειγμάτων ελέγχου, προκειμένου να διασφαλίζεται η ποιότητα των αποτελεσμάτων. Η επεξεργασία των δειγμάτων αυτών πρέπει να γίνεται με τον ίδιο τρόπο με τον οποίο γίνεται η επεξεργασία των άγνωστων δειγμάτων. Επιπλέον, συστήνεται η ανάλυση των αποτελεσμάτων τους να γίνεται με τη βοήθεια των κατάλληλων στατιστικών μεθόδων.

Σε περίπτωση επιδείνωσης συσκευασίας ή εάν τα αποτελέσματα που προέκυψαν έχουν τροποποίηση απόδοσης, παρακαλώ ελάτε σε επαφή με τον τοπικό διανομέα σας ή χρησιμοποιήστε την ακόλουθη διεύθυνση ηλεκτρονικού ταχυδρομείου: imunochem@beckman.com

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Αφήστε τα αντιδραστήρια να φθάσουν σε ισορροπία σε θερμοκρασία δωματίου

Αραίωση των δειγμάτων και του ορού ελέγχου

Αραιώστε τα δείγματα και τον ορό ελέγχου που πρόκειται να εξεταστούν σε αναλογία 1/51, προσθέτοντας 10 μL δείγματος ή ορού ελέγχου σε πλαστικά ή γυάλινα σωληνάρια και έπειτα προσθέτοντας σε κάθε σωληνάριο 500 μL αραιωτικού μέσου. Ανακινήστε προσεκτικά πριν από την εξέταση.

ΜΗΝ ΑΡΑΙΩΝΕΤΕ ΤΑ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΕΣ

Διαδικασία εξέτασης

Αφήστε τα αντιδραστήρια να φθάσουν σε ισορροπία σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση.

| Ανοσολογικό βήμα 1 | Ανοσολογικό βήμα 2 | Μέτρηση |
|---|--|--|
| Στα επιστρωμένα σωληνάρια προσθέστε 200 μL βαθμονομητές, αραιωμένου δείγματος ή αραιωμένου ορού ελέγχου | Αποχύστε το περιεχόμενο του κάθε σωληναρίου και έπειτα πλύντε με 2 mL απεσταγμένου νερού | Αποχύστε το περιεχόμενο του κάθε σωληναρίου, έπειτα πλύντε δύο φορές με 2 mL απεσταγμένου νερού (εκτός των σωληναρίων «ολικές κρούσεις») |
| | Αποχύστε προσεκτικά, έπειτα προσθέστε 200μL ιχνηθέτη σε κάθε σωληνάριο | Αποχύστε προσεκτικά |
| Επώαστε για 2 ώρες στους 18-25 °C με ανάδευση (>280 rpm). | Επώαστε για 1 ώρα στους 18-25 °C με ανάδευση (>280 rpm). | Μετρήστε τις δεσμευμένες κρούσεις (B) και τις ολικές κρούσεις (T) για 1 λεπτό. |

*Προσθέστε 200 μL ιχνηθέτη σε 2 επιπλέον σωληνάρια για να βρείτε τις ολικές κρούσεις.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

(βλέπε τη σελίδα "APPENDIX" για περισσότερες λεπτομέρειες)

Τα αντιπροσωπευτικά δεδομένα παρέχονται μόνο ως παράδειγμα. Η απόδοση που επιτυγχάνεται σε κάθε εργαστήριο μπορεί να διαφέρει.

Ευαισθησία

Αναλυτική ευαισθησία: 0,15 U/mL

Λειτουργική ευαισθησία: 5,34 U/mL

Εξειδίκευση: το kit είναι εξειδικευμένο για του CA 15-3.

Ακρίβεια

Intra-assay:

Δείγματα τον ορό εξετάστηκαν 25 φορές στην ίδια σειρά. Οι συντελεστές απόκλισης που προέκυψαν ήταν μικρότεροι ή ίσοι με 6,2%.

Inter-assay:

Δείγματα τον ορό εξετάστηκαν δύο φορές το καθένα σε 25 διαφορετικές σειρές. Οι συντελεστές απόκλισης που προέκυψαν ήταν μικρότεροι ή ίσοι με 8,4%.

Ακρίβεια

Δοκιμή αραιώσης

Δείγματα υψηλής συγκέντρωσης αραιώθηκαν διαδοχικά σε αραιωτικό μέσο. Τα ποσοστά ανάκτησης κυμαίνονταν μεταξύ 80,9% και 101%.

Δοκιμή ανάκτησης

Γνωστές ποσότητες CA 15-3 προστέθηκαν σε δείγματα τον ορό με χαμηλές συγκεντρώσεις. Τα ποσοστά ανάκτησης κυμαίνονταν μεταξύ 86% και 108%.

Εύρος μέτρησης (από αναλυτική ευαισθησία έως τον υψηλότερο βαθμονομητή):

0,15 μέχρι κατά προσέγγιση 250 U/mL.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Η μή τήρηση των οδηγιών που περιέχονται στο έντυπο μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τα αποτελέσματα. Τα αποτελέσματα πρέπει να ερμηνευθούν λαμβάνοντας υπόψη τη συνολική κλινική παρουσίαση της ασθενούς συμπεριλαμβανομένων της κλινικής ιστορίας, των δεδομένων από συμπληρωματικές εξετάσεις και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Για προσδιορισμούς που χρησιμοποιούν αντισώματα, υπάρχει πιθανότητα παρεμβολής από ετερόφιλα αντισώματα στο δείγμα του ασθενούς. Οι ασθενείς που ήρθαν σε συχνή επαφή με ζώα ή έκαναν ανοσοθεραπεία ή διαγνωστικές επεμβάσεις με τη βοήθεια ανοσοσφαιρινών ή τμήματα ανοσοσφαιρίνης πιθανόν να παραγάγουν αντισώματα, π.χ. HAMA, που παρεμβάλλουν στους ανοσοπροσδιορισμούς.

Τα εν λόγω παρεμβάλλοντα αντισώματα πιθανόν να προκαλέσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Να αξιολογείτε προσεκτικά τα αποτελέσματα ασθενών που υποπτεύεστε ότι φέρουν αυτά τα αντισώματα.

Παρεμβολή

Η εξέταση δεν επηρεάζεται από την αιμοσφαιρίνη (5 mg/mL), τα τριγλυκερίδια (30 mg/mL) και χολερυθρίνης (0,4 mg/mL).

Hook effect

Δεν υπάρχει hook effect όταν χρησιμοποιείται η διαδικασία δύο βημάτων.

IRMA MUC-1 gene associated antigen (CA 15-3)

REF IM2397, B64314

RINKINYS RADIOIMUNINIAM ANTIGENO, ASOCIJUOTO SU GENU MUC-1 (CA 15-3) NUSTATYMI IN VITRO ŽMOGAUS KRAUJO SERUME IR PLAZMOJE

Diagnostikai *in vitro*.

PRINCIPAS

Imuninis radiometrisis antigeno, asocijuoto su genu muc-1 (CA 15-3), nustatymas priskiriamas prie „sumuštinio“ tipo tyrimų, kuriuose naudojami du įvairių molekulių epitopų monokloniniai pelės antikūnių tipai.

Tiriami pavyzdžiai, kontroliniai ir kalibravimo mėginiai inkubuojami mėgintuvėliuose, padengtuose viena monokloninių antikūnių rūšimi. Po to pašalinamas mėgintuvėlių turinys, jie praplaunami, ir antigenui CA 15-3 tiriamajame mėginyje nustatyti atliekama dar viena inkubacija su kitų antikūnių tirpalu, žymėtais ¹²⁵I. Pasibaigus inkubacijai mėgintuvėlių turinys pašalinamas, išplaunami nesurišti žymėti antikūniai ir matuojamas surištas ¹²⁵I aktyvumas. Koncentracija CA 15-3, tiesiogiai proporcingai surištam aktyvumui, nustatoma interpoliavimo metodu pagal kalibravimo kreivę.

Šis prietaisas yra skirtas naudoti j CA matavimo 15-3 antigenas, pagalbos krūties valdymo vėžiu sergantiems pacientams. Padidėjusi koncentracija gali būti pastebėtas serumo arba kraujo plazmoje pacientams, sergantiems gerybine sąlyga ar kitų ne vėžio susirgimų, nes pat krūties vėžio ir kitų ligų, piktybių.

ISPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

Bendros pastabos:

- Buteliukus su kalibravimo ir kontroliniais mėginiais laikyti atidarytus minimalų laiko tarpą, kad neišgaruotų skystis.
- Nemaišyk skirtingų rinkinių partijų reagentus.
- Kalibruojančių bandinių ir tiriamu ėminių analizė atliekama vienu metu.
- Kad gauti tinkamus rezultatus, svarbu atsižvelgti į rekomenduojamas purtymo sąlygas.
- Rekomenduojama atlikti bandinį du kartus.
- Kiekvienas mėgintuvėlis turi būti panaudotas tik vieną kartą.

Pagrindinės radiacinės saugos taisyklės

Įsigyjant, naudojant ir gabenant radioaktyvius medžiagas būtina laikytis toje šalyje nustatytų radiacinio saugumo normų ir darbo su radioaktyviomis medžiagomis sanitarinių taisyklių. Laboratorijose draudžiama valgyti, gerti, rūkyti, naudoti kosmetiką.

- Šalia radioaktyviųjų medžiagų negalima valgyti, gerti, rūkyti ar taikyti kosmetikos priemones
- Negalima pipetuoti radioaktyviųjų tirpalų burna.
- Venkite bet kokio kontakto su radioaktyviomis medžiagomis, mūvėdami pirštineis ir vilkėdami laboratorinius chalatus.
- Visos manipuliacijos su radioaktyviomis medžiagomis turi būti vykdomos tinkamoje vietoje, toli nuo koridorių ir kitų judrių vietų.
- Radioaktyvios medžiagos turi būti saugomos konteineryje tam skirtoje vietoje.
- Turi būti vedama savalaikė visų radioaktyviųjų produktų gavimo ir saugojimo registracija.
- Laboratorinė įranga ir stikliniai indai, kurie gali būti užteršti, turėtų būti atskirti, siekiant išvengti kryžminio užteršimo skirtingais radioizotopais.
- Kiekvienas radioaktyvaus užteršimo ar radioaktyvios medžiagos praradimo atvejis turi būti tvarkomas pagal nustatytas procedūras.
- Radioaktyvios atliekos turi būti tvarkomos pagal šalyje nustatytas taisykles.

Natrio azidas

Kai kurių reagentų sudėtyje yra natrio azido, atliekančio konservanto vaidmenį. Natrio azidas gali reaguoti su švinu, variu ar žalvariu ir sudaryti sprogius metalų azidus. Reagentus pašalinkite per santechninę sistemą, nuplaudami gausiu kiekiu vandens.

Žmogaus kilmės medžiagos

Žmogaus kilmės medžiagos, kurių yra rinkinio komponentų sudėtyje, neturi HIV 1, HIV 2, HCV antikūnių ir hepatito B (HBsAg) paviršinio antigeno

antikūnio. Tačiau nė vienas šiuolaikinės analizės metodas negali garantuoti, kad tiriamojoje medžiagoje nėra infekcinių agentų. Todėl dirbant su rinkinio komponentais būtina laikytis saugumo priemonių.

Su visais serumo ir plazmos ėminiais reikėtų elgtis, kaip su galinčiais perduoti hepatitą ar AIDS atliekos turi būti pašalinamos, vadovaujantis valstybės nustatyta tvarka.

GHS PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Neklasifikuojama kaip pavojinga

SDS

Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje techdocs.beckmancoulter.com

MĖGINIŲ ĖMIMAS, PARUOŠIMAS, LAIKYMAS IR PRASKIEDIMAS

- Surinkti kraują į švairius sausius mėgintuvėlius ar mėgintuvėlius, kuriuose yra EDTA.
- Atskirkite serumą ar plazmą nuo forminių elementų centrifuguojant.
- Serumo ar plazmos mėginius galima laikyti 2-8 °C temperatūroje, jei tyrimą planuojama atlikti per 24 valandas. Norint laikyti ilgesnį laiką, juos reikia laikyti užšaldytus (< -20 °C temperatūroje iki 3 mėnesių). Mėginius reikia padalinti į atskiras dalis, kad mėginių nereikėtų pakartotinai užšaldyti ir atšildyti. Tiriamus mėginius reikia atšildyti kambario temperatūroje.
- Jeigu CA 15-3 koncentracija mėginyje išeina už kalibravimo kreivės ribų, jį reikia atskiesti rinkinyje esančiu skiedikliu ir pakartotinai atlikti tyrimą.

Serumas ir EDTA plazma vertinamas 15 pavyzdžiams (serumas vertinamas riboje nuo 11,86 iki 165,2 V/ml) kur palyginama naudojant IM2397 MUC-1 gene associated antigen rinkinį. Rezultatai yra tokie:

[EDTA-plazma] = 1,1233 [serumas] - 1,1026

R = 0,9942

PATEIKIAMOS MEDŽIAGOS

Visi rinkinio reagentai yra patvarūs, kol nepasibaigęs rinkinio tinkamumo naudoti laikas, nurodytas ant rinkinio etiketės, jei laikomi 2-8 °C temperatūroje. Buteliukų su reagentais etiketėse nurodyta galiojimo terminas galioja tik laikant reagentus gamybinėmis sąlygomis iki pat rinkinio komplektavimo ir netaikytina vartotojo gautai produkcijai.

CA 15-3 nustatymo rinkinys: 100 mėgintuvėlių (Kat. Nr. IM2397).

Mėgintuvėliai, padengti CA 15-3 antikūniais: 2 x 50 vnt. (paruošti naudojimui).

Žymuo, CA 15-3 antikūnių, žymėtų ¹²⁵I, tirpalas: vienas buteliukas, 22 ml (paruoštas naudojimui).

Pagamavimo dieną buteliuke yra 600 kBk ¹²⁵I-imunoglobulinų buferyje su jaučio serumo albuminu, dažikliu ir natrio azidu (< 0,1 %).

Kalibravimo mėginiai: 4 buteliukai po 2 ml + 1 buteliukas su 4 ml „nulinio“ kalibravimo mėginio (paruošti naudojimui).

Kalibravimo mėginiuose yra žmogaus CA 15-3 koncentracijos diapazone nuo 0 iki maždaug 250 V/ml buferyje su jaučio serumo albuminu ir natrio azidu (<0,1 %). Tikslios koncentracijos nurodytos buteliukų etiketėse. Atidarytus buteliukus su kalibravimo mėginiais galima laikyti 2-8 °C temperatūroje iki rinkinio galiojimo laiko pabaigos. Kalibravimo mėginių reikšmės buvo gautos vidinio standarto pagalba.

Kontrolinis serumas: 1 buteliukas, 1 ml (paruoštas naudoti).

Buteliukuose yra žmogaus kraujo serumas su tam tikra CA 15-3 koncentracija ir natrio azidu (<0,1 %). Tikėtinas koncentracijos diapazonas nurodytas pridėtame lapelyje. Atidarytus buteliukus su kontrolinių mėginių galima laikyti 2-8 °C temperatūroje 2 savaitių bėgyje arba < -18 °C temperatūroje iki rinkinio galiojimo laiko pabaigos.

Skiediklis: 1 buteliukas, 50 ml (paruoštas naudojimui).

Buteliuke yra buferinis tirpalas su jaučio serumo albuminu. Atidarytą buteliuką su kalibruotais mėginiais galima laikyti 2-8 °C temperatūroje, kol pasibaigs jo galiojimo laikas.

CA 15-3 nustatymo rinkinys: 50 mėgintuvėlių (Kat. Nr. B64314)

Mėgintuvėliai, padengti CA 15-3 antikūniais: 1 x 50 vnt. (paruošti naudojimui).

Žymuo, CA 15-3 antikūnių, žymėtų ¹²⁵I, tirpalas: vienas buteliukas, 22 ml (paruoštas naudojimui).

Kalibravimo mėginiai: 4 buteliukai po 2 ml + 1 buteliukas su 4 ml „nulinio“ kalibravimo mėginio (paruošti naudojimui).

Kontrolinis serumas: 1 buteliukas, 1 ml (paruoštas naudoti).

Skiediklis: 1 buteliukas, 50 ml (paruoštas naudojimui).

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS MEDŽIAGOS

Be standartinės laboratorinės įrangos, reikalingi:

- mikropipetės (10 µl, 200 µl, 500 µl)
- pusiau automatines pipetės (200 µl ir 2 ml)
- Vortex tipo maišytuvo,
- horizontalus arba orbitinis kratiklis;
- čiurkšlinis siurblys;
- gama skaičiuotuvo.

REZULTATAI

Rezultatai skaičiuojami interpoliacijos metodu pagal kalibravimo kreivę, gautą kartu su nežinomų mėginių analize.

Kalibravimo kreivė

Kokybės kontrolės skyriaus pateikti rezultatai apskaičiuoti naudojant *glodžiosios* kreivės pritaikymą, logaritminėje vertikalojoje ašyje nurodant nustatytas radioaktyvumo reikšmes ($sk\dot{c}./min\cdot kal$ – $sk\dot{c}./min\cdot kal_0$), o logaritminėje horizontalojoje ašyje – kalibratorių analitės koncentraciją (V/ml).

Naudojant kitus duomenų redukcijos metodus, rezultatai gali šiek tiek skirtis.

| Bendras skaičius: 241 627 skč./min. | | | | |
|-------------------------------------|----------------|-----------------|---------|-------------------------------|
| Kalibratoriai | CA 15-3 (V/ml) | skč./min. (n=3) | B/T (%) | skč./min.kal - skč./min.kal.0 |
| 0 | 0 | 215 | 0,09 | - |
| 1 | 15 | 7 414 | 3,07 | 7 199 |
| 2 | 53 | 21 360 | 10,08 | 21 145 |
| 3 | 143 | 42 813 | 17,72 | 42 598 |
| 4 | 279 | 63 497 | 26,28 | 63 282 |

(Standartinės kalibravimo kreivės pavyzdys. Nesinaudoti skaičiuojant rezultatus.)

Ėminiai

Kiekvieno mėginio atveju vertikalojoje ašyje raskite skč./min. arba B/T reikšmę ir horizontalojoje ašyje patikrinkite atitinkamą analitės koncentraciją.

Atskiestų mėginių koncentracijas reikia koreguoti pagal skiedimo koeficientą.

Pastaba: Buteliukų su kalibravimo mėginiais etiketėse nurodytos koncentracijos atsižvelgiant 51 karto atskiedimą, todėl jokios korekcijos mėginiui, atskiestam šioje proporcijoje, nereikia.

TIKĖTINOS VERTĖS

Rekomenduojame, kad kiekviena laboratorija nusistatytų savo etaloninius dydžius. Žemiau pateikti dydžiai, nustatyti sveikuose asmenyse, yra tik indikatyvūs.

| Asmenų skaičius | Vidutinis dydis (x) | 95-oji procentilė | 99-oji procentilė |
|-----------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| 160 | 20,3 V/ml | 36 V/ml | 43 V/ml |

Klinikinis jautrumas Klinikinio tyrimo metu prieš pradėdant gydymą buvo paimti 170 pacientų, kuriems buvo diagnozuotas krūties vėžys be metastazių, bandinių. 49 šios grupės pacientams buvo nustatytas didesnis nei 34 vnt./ml žymuo; tai reiškia, kad krūties vėžio diagnostavimu metu žymens klinikinis jautrumas buvo 28,8 procentų. Ši priemonė indikuojama CA 15-3 antigenui matuoti vykdamant krūties vėžiu sergančių pacientų kontrolę.

KOKYBĖS KONTROLĖ

„Gera laboratorinė praktika“ suprantama taip, kad reguliariai naudojami kontroliniai ėminiai gautų rezultatų kokybei užtikrinti. Šiuos ėminius reikia

paruošti lygiai taip pat, kaip ir tyrimo ėminius. Rekomenduojama jų rezultatus analizuoti panaudojant atitinkamus statistinius metodus.

Tuo atveju, kai pakuotė rimtai pažeista arba gauti rezultatai nesutampa su tyrimų charakteristikomis, prašome kreiptis į mūsų specialistus: Elektroninis paštas: imunochem@beckman.com

PROCEDŪRA

Reagentų paruošimas

Visi reagentai turi būti kambario temperatūros.

Tiriamų bandinių ir kontrolinio serumo atskiedimas

Atskiesti tiriamus bandinius ir kontrolinį serumą skiedikliu 51 kartą, pavyzdžiui, sumaišyti stikliniame arba plastmasiniame mėgintuvėlyje 10 µl bandinio ir 500 µl skiediklio. Sumaišyti mėgintuvėlių turinį.

NESKIESTI KALIBRAVIMO MĖGINIŲ

Tyrimo procedūra

Prieš pipetavimą padėk visus reagentus į kambario temperatūrą.

| 1 imunologinė stadija | 2 imunologinė stadija | Rezultatų matavimas |
|---|--|--|
| Į antikūniais padengtus mėgintuvėlius paeiliui įlašinti: 200 µl kalibravimo mėginių arba atskiestų bandinių ir kontrolinių serumų | Pašalinti mėgintuvėlių turinį ir 2 kartus praplauti juos 2 ml distiliuoto vandens. | Pašalinti mėgintuvėlių turinį ir 2 kartus praplauti juos 2 ml distiliuoto vandens (išskyrus T mėginius). |
| | Kruopščiai pašalinti skystį ir įlašinti į mėgintuvėlius po 200 µl žymens.* | Kruopščiai pašalinti skystį. |
| Kruopščiai sumaišyti. Inkubuoti 2 valandas 18-25 °C temperatūroje nuolat kratant. (>280 osc./min.) | Inkubuoti 1 valandas 18-25 °C temperatūroje nuolat kratant. (>280 osc./min.) | Skaičiuokite surištą (B) ir bendrą (T) aktyvumą 1 min. |

*Į du papildomus mėgintuvėlius įlašinti po 200 µl žymens bendram 125l ("T" mėginio) aktyvumui įvertinti.

ANALITINĖS CHARAKTERISTIKOS

(smulkesnė informacija pateikta skyriuje „APPENDIX“.)

Tipingi duomenys pateikiami tik kaip iliustracija. Atskirose laboratorijose gauti efektyvumo duomenys gali skirtis.

Jautrumas

Analitinis jautrumas: 0,15 V/ml

Funkcinis jautrumas: 5,34 V/ml

Specifiškumas: šis nustatymas yra specifinis CA 15-3 atžvilgiu.

Preciziškumas

Analizės metu

Serumo mėginio analizė buvo atliekama 25 replikatuose vienos nustatymo serijos ribose. Matuotų CA 15-3 lygių variacijų koeficientas kraujo serume neviršijo 6,2%.

Tarp analizių

Serumo mėginių dublikatų analizė buvo atliekama 25 skirtingose nustatymo serijose. Matuotų CA 15-3 lygių variacijų koeficientas kraujo serume neviršijo 8,4%.

Tikslumas

Praskiedimo testas

Žmogaus kraujo serumo su aukšta CA 15-3 koncentracija pavyzdžiai buvo skiedžiami buferiniu tirpalu. „Atidarymo“ procentas siekė nuo 80,9% iki 101%.

„Atsidarymo“ testas

Žinomi CA 15-3 kiekiai buvo pridedami į kraujo serumo bandinius su maža jų dalimi. Pamatuotas „atidarymo“ dydis siekė nuo 86% iki 108%.

Nustatymo ribos (nuo analitinio jautrumo iki aukščiausios kalibravimo mėginio reikšmės):

0,15 iki maždaug 250 V/ml.

RIBOJIMAI

Tyrimo metodikos nepaisymas gali iškraipyti tyrimo rezultatus. Nustatymo rezultatai turi būti interpretuojami atsižvelgiant į bendrą paciento klinikinę būklę, įskaitant anamnezę, kitų testų duomenis ir kitą tinkamą informaciją.

Tyrimams, kuriuose naudojami antikūnai, gali trukdyti paciento mėginyje esantys heterofiliniai antikūnai. Pacientai, nuolat kontaktuojantys su gyvūnais arba tie, kuriems taikyta imunoterapija arba diagnostinės procedūros naudojant imunoglobulinus ar imunoglobulinų fragmentus, gali sintetinti antikūnus, pvz., HAMA, trukdančius atlikti imuninius tyrimus.

Tokie trukdantys antikūnai gali lemti klaidingus rezultatus. Pacientų, kurie įtariami turintys šių antikūnų, rezultatus reikia vertinti atsargiai.

Įtaka

Tyrimo rezultatams nedaro įtakos padidėjusi hemoglobino (5 mg/ml), trigliceridų (30 mg/ml) ir bilirubino (0,4 mg/ml) koncentracija.

Kablo ("Hook") efektas

Dviejų stadijų metode „chuk-efekto“ nėra.

IRMA MUC-1 gene associated antigen (CA 15-3)

REF IM2397, B64314

IMMUNORADIOMETRYCZNA METODA DO OZNACZANIA IN VITRO ANTYGENU ZWIĄZANEGO Z GENEM MUC-1 (CA 15-3) W LUDZKIEJ SUROWICY I OSOCZU Do użytku diagnostycznego *in vitro*.

ZASADA

Do oznaczania antygeny związane z genem MUC-1 (CA 15-3) zastosowano dwustopniową metodę „kanapkową”. W zestawie użyto dwa monoklonalne mysie przeciwciała skierowane bezpośrednio przeciw dwóm różnym epitopom cząsteczki.

Próbki lub kalibratory są inkubowane w probówkach pokrytych pierwszym przeciwciałem. Następnie po odciążeniu zawartości probówek dodawane jest drugie przeciwciało znakowane ¹²⁵J. Po inkubacji zawartość probówek jest wypłukiwana, aż do usunięcia przeciwciała znakowanego ¹²⁵J. Związana radioaktywność jest oznaczana w liczniku gamma. Stężenie antygeny CA 15-3 w danej próbce jest odczytywane z krzywej standardowej. Jego stężenie w próbce jest wprost proporcjonalne do jej radioaktywności.

Produkt ten jest przeznaczony do zastosowania przy oznaczaniu antygeny CA 15-3 aby pomóc w terapii pacjentów z rakiem piersi. Podwyższone stężenie można zaobserwować w surowicy i osoczu pacjentów z odmiarami łagodnymi albo innymi nie-rakowymi stanami patologicznymi jak również w przypadkach raka piersi oraz w innych złośliwych odmiarach.

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Uwagi ogólne:

- Fiolki z kalibratorami i kontrolami nie powinny pozostawać otwarte przez czas dłuższy niż jest to konieczne aby uniknąć nadmiernego odparowania zawartości fiołki.
- Nie należy mieszać odczynników z różnych serii produkcyjnych.
- Krzywa standardowa musi być wykonana podczas każdego oznaczania.
- Właściwe nastawienie wytrząsarki jest bardzo ważne dla powtarzalności wyników.
- Zalecane jest wykonywanie oznaczeń w duplikatach.
- Każda próbka może być użyta tylko raz.

Podstawowe zasady bezpieczeństwa podczas postępowania z promieniowaniem

Wejście w posiadanie, używanie, utylizacja i transfer materiałów radioaktywnych powinno być zgodne z prawem obowiązującym w danym kraju. Przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa przy stosowaniu materiałów radioaktywnych powinno zapewnić odpowiednią ochronę:

- Nie jeść, nie pić, nie palić wyrobów tytoniowych, nie aplikować kosmetyków w obecności materiałów radioaktywnych.
- Nie pipetować radioaktywnych roztworów przy użyciu ust.
- Unikać wszelkiego kontaktu z materiałami radioaktywnymi poprzez stosowanie rękawic i ubrań ochronnych.
- Wszystkie czynności przy użyciu materiałów radioaktywnych powinny być wykonywane w przeznaczonym do tego celu miejscu, znajdującym się w odpowiedniej odległości od korytarzy i innych pomieszczeń.
- Materiały radioaktywne powinny być przechowywane w zabezpieczonym pojemniku.
- Należy zapisać datę przyjęcia radioaktywnych produktów, a czas ich przechowywania powinien być zgodny z odpowiednim terminem.
- Sprzęt laboratoryjny i naczynia, które uległy kontaminacji powinny być oddzielone od pozostałych, aby nie spowodować kontaminacji krzyżowej różnymi radioizotopami
- W sytuacji zanieczyszczenia radioizotopami i/lub zgubieniu radioaktywnego materiału powinno być powzięte postępowanie zgodne z prawem obowiązującym w kraju użytkownika.
- Radioaktywne odpady powinny być przechowywane zgodnie z przepisami obowiązującymi w kraju użytkownika.

Azydek sodu

Niektóre odczynniki zawierają azydek sodu jako środek konserwujący. Azydek sodu wchodzi w reakcje z ołowiem, miedzią lub mosiądzem, tworząc wybuchowe metale azydki. W związku z tym odczynniki zawierające azydek sodu powinny być rozcieńczane dużą ilością wody przed wylaniem ich do kanalizacji.

Materiały pochodzące od człowieka

Materiały pochodzące od człowieka użyte w tym zestawie mają wynik negatywny po badaniach na obecność przeciwciał HIV1 i HIV2, przeciwciał przeciw HCV, powierzchniowego antygeny Hepatitis B (HBsAg). Mimo to powinny być traktowane jak materiał zakaźny. Nie ma testu dającego pełną gwarancję nieobecności wirusa. Należy obchodzić się z tym zestawem z zachowaniem wszelkich środków ostrożności.

Wszystkie surowice i osocza należy tak traktować jakby były materiałem do zakażenia hepatitis lub AIDS, a niszczenie odpadów powinno być przeprowadzone zgodnie z przepisami obowiązującymi w kraju użytkownika.

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ WG GHS

Substancja niesklasyfikowana jako niebezpieczna



Karta charakterystyki jest dostępna w witrynie techdocs.beckmancoulter.com

ZBIERANIE PRÓB, PRZYGOTOWYWANIE, ROZCIEŃCZANIE I PRZECHOWYWANIE

- Pobierać krew do suchych probówek lub zawierających EDTA.
- Oddzielić surowce lub osocze od komórek poprzez wirowanie.
- Próbki surowicy i osocza powinny być przechowywane w 2-8°C, jeżeli oznaczenie zostanie przeprowadzone w ciągu 24 godzin. Jeżeli oznaczenie będzie przeprowadzone później (w ciągu 3 miesięcy), to należy i przechowywać oddzielnie zamrożone próbki w < -20°C, aby nie powtarzać zamrażania i rozmrażania tej samej próbki. Rozmrażanie próbek musi być przeprowadzane w temperaturze pokojowej.
- Próbki mające stężenie większe od najwyższego kalibratora rozcieńczyć rozcieńczalnikami.

Wartości surowicy i osocza z EDTA dla 15 prób (zakres wartości dla próbek surowicy 11,86 – 165,2 U/mL) zostały porównane przy użyciu zestawu IM2397 MUC-1 gene associated antigen. Uzyskane wyniki:

[osocze] = 1,1233 [surowica] - 1,1026

r = 0.9942

MATERIAŁY DOSTARCZONE

Wszystkie odczynniki zestawu są stabilne zgodnie z datą ich ważności umieszczoną na opakowaniu, pod warunkiem przechowywania ich w temperaturze 2-8°C. Daty ważności są wydrukowane tylko na etykietach fiołek z przedłużonym okresem składowania składników przez producenta. Nie należy brać ich pod uwagę.

Zestaw do oznaczania CA 15-3, 100 probówek (Kat. #IM2397)

Próbki pokryte przeciwciałami monoklonalnymi przeciw CA 15-3: 2 x 50 probówek (gotowy do użycia)

Znakowane 125J przeciwciało monoklonalne przeciw CA 15-3: 1 fiołka 22 mL (gotowy do użycia)

Fiołka zawiera 600 kBq, w dniu produkcji, znakowanego 125J przeciwciała monoklonalnego w albuminie bydlęcej surowicy, azydek sodu (<0,1%) oraz z barwnik.

Kalibratory: 4 fiołki po 2 mL + 1 fiołka z kalibratorem zero, 4 mL (gotowy do użycia)

Fiołki z kalibratorami zawierają od 0 do około 250 U/mL ludzkiego CA 15-3 w buforze zawierającym albuminę bydlęcej surowicy i azydek sodu (<0,1%). Właściwe stężenia są podane na etykiecie znajdującej się na każdej fiołce. Po otwarciu, przechowywać fiołkę w 2-8°C zgodnie z datą ważności zestawu. Kalibratory są wzorcowane w oparciu o wewnętrzne standardy referencyjne.

Surowica kontrolna: 1 fiołka, 1 mL (gotowy do użycia)

Fiołka zawiera ludzkie CA 15-3 w ludzkiej surowicy z azydkiem sodu (< 0,1%). Oczekiwany zakres stężeń podano w dodatku. Po otwarciu, przechowywać fiołkę w 2-8°C. Na dłuższy czas należy przechowywać < -18°C.

Rozcieńczalnik: jedna 50 mL fiołka (gotowe do użycia)

Roztwór zawiera albuminę bydlęcej surowicy w buforze. Po otwarciu, przechowywać fiołkę w 2-8°C zgodnie z datą ważności zestawu.

Zestaw do oznaczania CA 15-3, 50 probówek (Kat. #B64314)

Probówki pokryte przeciwciałami monoklonalnymi przeciw CA 15-3: 1 x 50 probówek (gotowy do użycia)

Znakowane 125J przeciwciało monoklonalne przeciw CA 15-3: 1 fiołka 22 mL (gotowy do użycia)

Kalibratory: 4 fiołki po 2 mL + 1 fiołka z kalibratorem zero, 4 mL (gotowy do użycia)

Surowica kontrolna: 1 fiołka, 1 mL (gotowy do użycia)

Rozcieńczalnik: jedna 50 mL fiołka (gotowe do użycia)

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZANE

Poza standardowym wyposażeniem laboratorium wymagane są następujące urządzenia:

- Dokładna pipeta (10 µL, 200 µL, 500 µL).
- Powtarzalna mikropipeta (200 µL, 2 mL).
- Mieszadło wirowe („vortex“).
- Pozioma lub orbitalna wytrząsarka.
- System odciągający.
- Licznik gamma do 125 J.

WYNIKI

Wyniki należy odczytać z krzywej standardowej. Krzywa standardowa służy do oznaczania stężenia CA 15-3 w próbkach mierzonych w tym samym czasie co kalibratory.

Krzywa standardowa

Wyniki w dziale kontroli jakości obliczono przy użyciu krzywej *składanej* dopasowania z oznaczoną promieniotwórczością ($cpm_{kal} - cpm_{kal0}$) na logarytmicznej osi pionowej i stężeniem analitu w kalibratorach na logarytmicznej osi poziomej (U/mL).

Zastosowanie innych metod do opracowania danych może dać nieco inne wyniki.

| Całkowita aktywność: 241 627 cpm | | | | |
|----------------------------------|----------------|-----------|---------|------------------------------|
| Kalibratory | CA 15-3 (U/mL) | cpm (n=3) | B/T (%) | ($cpm_{kal} - cpm_{kal0}$) |
| 0 | 0 | 215 | 0,09 | - |
| 1 | 15 | 7414 | 3,07 | 7199 |
| 2 | 53 | 21 360 | 10,08 | 21 145 |
| 3 | 143 | 42 813 | 17,72 | 42 598 |
| 4 | 279 | 63 497 | 26,28 | 63 282 |

(Przykładowe wartości do krzywej wzorcowej, nie do zastosowania)

Próbki

W przypadku każdej próbki należy zlokalizować wartość cpm lub B/T na osi pionowej i odczytać odpowiednie stężenie analitu na osi poziomej.

Stężenia próbek rozcieńczonych należy skorygować o współczynnik rozcieńczenia.

Uwaga: Stężenie podane na etykietach fiołek z kalibratorami uwzględniają już rozcieńczenie 1:51 i należy to wziąć pod uwagę przy obliczaniu stężenia w próbkach, które nie były rozcieńczane.

OCZEKIWANE WARTOŚCI

Sugeruje się, aby w każdym laboratorium ustalono własny zakres wartości referencyjnych. Poniższe wartości otrzymano od tylko osób zdrowych. I są one jedynie wskazówką:

| Liczba przypadków | Średnia (x) | 95百分yl | 99百分yl |
|-------------------|-------------|---------|---------|
| 160 | 20,3 U/mL | 36 U/mL | 43 U/mL |

Diagnostyczna czułość Użyteczność kliniczna została określona po zastosowaniu zestawu w próbkach od 170 pacjentów z nie-przerzutowym rakiem piersi przed rozpoczęciem terapii. W tej grupie odnotowano wartości powyżej 35 U/mL u 49 pacjentów. Odpowiada to 28,8% czułości diagnostycznej markera w diagnostyce raka piersi.

KONTROLA JAKOŚCI

Dobrze funkcjonujące laboratorium dla swej wiarygodności stosuje regularnie wewnętrzną kontrolę jakości otrzymanych wyników. Te próbki muszą być przygotowywane i oznaczane zgodnie z procedurą. Ich przydatność do oceny każdego zestawu będzie właściwa przy zastosowaniu odpowiedniej analizy statystycznej.

W przypadku uszkodzenia paczki lub jeżeli opracowanie otrzymanych wyników sprawia trudności proszę się kontaktować z miejscowym dystrybutorem lub pod adresem E-mail: imunochem@beckman.com

PROCEDURA

Przygotowanie odczynników

Wszystkie odczynniki należy doprowadzić do temperatury pokojowej.

Rozcieńczanie próbek i kontroli

Rozcieńczy próbki i oznaczoną kontrolę 1/51, poprzez dodanie 10 µL próbki lub kontroli do plastikowych probówek i następnie dodanie do każdej probówki 500 µL rozcieńczalnika. Wstrząsnąć delikatnie przed oznaczeniem.

NIE ROZCIEŃCZAĆ KALIBRATORÓW

Procedura oznaczania

Wszystkie odczynniki przed pipetowaniem należy doprowadzić do temperatury pokojowej.

| 1. Etap immunologiczny | 2. Etap immunologiczny | Zliczanie |
|--|---|--|
| Do pokrytych probówek dodać: 200 µL kalibratorów, rozcieńczonych próbek i rozcieńczonych kontroli. | Odciągnąć zawartość każdej probówki dokładnie, następnie przepłukać dwukrotnie probówki 2 mL wody destylowanej. | Odciągnąć zawartość każdej probówki, a następnie przepłukać dwukrotnie 2 mL wody destylowanej (z wyjątkiem 2 „całkowite cpm”). |
| Inkubować 2 godziny w 18-25°C z wytrząsaniem (>280 rpm). | Ostrożnie odciągnąć, a następnie dodać 200 µL znacznika do każdej probówki. | Ostrożnie odciągnąć. |
| | Inkubować 1 godzinę w 18-25°C z wytrząsaniem (>280 rpm). | Zliczać minutę związane cpm (B) i całkowite cpm (T). |

*Dodać 200 µL znacznika do 2 dodatkowych probówek żeby uzyskać «całkowite cpm».

CHARAKTERYSTYKA TESTU

(Po więcej wiadomości zajrzyj do zestawu danych w „DODATKU”)

Reprezentatywne dane są przedstawiane tylko do celów ilustracyjnych. Uzyskiwane parametry mogą się różnić w zależności od laboratoriów.

Czułość

Analalityczna czułość: 0,15 U/mL

Funkcjonalna czułość: 5,34 U/mL

Specyficzność: zestaw jest specyficzny tylko w stosunku do CA 15-3.

Kontrola precyzji

Wewnątrz zestawu

Próbki surowicy z tej samej serii były oznaczane 25 razy. Współczynniki wariancji były poniżej lub równe wartości do 6,2%.

Między zestawami

Próbki surowicy były oznaczane w duplikatach w 25 różnych seriach. Współczynniki wariancji były poniżej lub równały się wartości do 8,4%.

Kontrola dokładności

Test rozcieńczania

Próbki surowicy o wysokim stężeniu były seryjnie rozcieńczone rozcieńczalnikiem. Procentowe odzyski otrzymano między 80,9% i 101%.

Test odzysku

Próbki surowicy o niskim stężeniu były dodawane do próbek o znanej zawartości CA 15-3. Procentowe odzyski otrzymano między 86% a 108%.

Zakres pomiarowy (od czułości analitycznej testu do stężenia najwyższego kalibratora):

0,15 do około 250 U/mL.

OGRANICZENIA

Niestosowanie się do instrukcji załączonej do zestawu może znacznie wpływać na wyniki. Wyniki powinny być interpretowane w oparciu o całość stanu klinicznego pacjenta, włącznie z historią choroby, danymi z dodatkowych testów i innymi informacjami.

W przypadku oznaczeń z wykorzystaniem przeciwciał istnieje możliwość zakłóceń spowodowanych przez obce przeciwciała w próbce pacjenta. Pacjenci, którzy byli regularnie wystawieni na kontakt ze zwierzętami

lub byli poddawani immunoterapii lub zabiegom diagnostycznym z użyciem immunoglobulin lub fragmentów immunoglobulin, mogą wytworzyć przeciwciała (np. HAMA) zakłócające wyniki oznaczeń immunologicznych.

Takie przeciwciała zakłócające mogą prowadzić do uzyskania błędnych wyników. Należy starannie przeanalizować wyniki u pacjentów z podejrzeniem obecności tych przeciwciał.

Substancje zakłócające

Na oznaczenie tym zestawem nie wpływa hemoglobina (5 mg/mL), triacyloglicerole (30 mg/mL) i bilirubiny (0,4 mg/mL).

Efekt wysokiej dawki (Hook effect)

Nie zaobserwowano efektu wysokiej dawki przy zastosowaniu procedury dwustopniowej.

IRMA MUC-1 gene associated antigen (CA 15-3)

REF IM2397, B64314

IN VITRO IMUNORADIOMETRICKÉ STANOVENÍ ANTIGENU ASOCIOVANÉHO S GENEM MUC-1 (CA 15-3) V LIDSKÉM SÉRU A PLAZMĚ

Pro diagnostické účely *in vitro*.

PRINCIP

Imunoradiometrické stanovení antigenu asociovaného s genem MUC-1 (CA 15-3) je dvoukrokové stanovení typu "sandwich". V soupravě jsou použity myši monoklonální protilátky proti dvěma různým epitopům molekuly.

Vzorky a kalibrátory se inkubují ve zkumavkách potažených první monoklonální protilátkou, zkumavky se promyjí a inkubují s druhou monoklonální protilátkou, značenou ¹²⁵I. Po této druhé inkubaci se obsah zkumavek odsaje a nenavázaná značená protilátka se odstraní promytím. Vázaná aktivita ¹²⁵I se poté měří na gama-čítači. Koncentrace CA 15-3 antigenu ve vzorcích je přímo úměrná změřené radioaktivitě a získá se interpolací z kalibrační křivky.

Tato souprava je určena pro stanovení CA 15-3 antigenu jako pomůcky při péči o pacienty s karcinomem prsu. Zvýšené koncentrace lze pozorovat v séru nebo plazmě pacientů s benigními stavy nebo u poruch jiných než karcinom, stejně jako u karcinomu prsu a jiných maligních onemocnění.

VAROVÁNÍ A OPATŘENÍ

Obecné poznámky:

- Lahvičky s kalibrátory a kontrolními vzorky by měly být otevřené co nejkratší dobu, aby nedošlo k nežádoucímu odpaření roztoku.
- Nemíchejte substance ze souprav různých šarží.
- Pro každou novou sérii analýz je nutné provést novou kalibraci.
- Správné nastavení třepačky je velmi důležité pro reprodukovatelnost stanovení.
- Doporučuje se provádět stanovení v duplikátech.
- Každá zkumavka může být použita jen jednou.

Základní pravidla radiační bezpečnosti

Tento radioaktivní materiál mohou přijímat, skladovat a používat pouze pracoviště, která splňují platné zákonné předpisy upravující podmínky pro bezpečné nakládání s otevřenými radionuklidovými zřažiči. Při práci s radioaktivními látkami dodržujte následující pravidla:

- Všechny radioaktivní látky musí být skladovány v původním balení a jen na místech k tomu určených.
- Přijem a spotřeba radioaktivních látek musí být evidována.
- Práce s radioaktivními látkami musí být prováděny pouze ve vyhrazených prostorách.
- Pipetování nesmí být prováděno ústy.
- V laboratořích určených k práci s radioaktivními látkami je zakázáno jíst, pít, kouřit, líčit se a pod.
- Obalový materiál, který není kontaminován, je možno odložit do běžného odpadu pouze po odstranění varovných nápisů a značek.
- Povrch pracovních stolů, který by mohl být kontaminován, je třeba pravidelně kontrolovat. Všechno laboratorní sklo, které bylo použito pro práci s radioaktivními látkami, musí být řádně dekontaminováno a proměřeno před dalším použitím.
- V případě kontaminace nebo úniku radioaktivního materiálu postupujte podle stanovených předpisů.
- Radioaktivní odpad likvidujte v souladu s platnými zákony a předpisy.

Azid sodný

Některé substance jsou konzervovány azidem sodným. Azid sodný může reagovat s olovem, mědí nebo mosazí za vzniku příslušných výbušných azidů. Proto likvidované reagentie splachujte velkým množstvím vody.

Biologický materiál lidského původu

Materiál lidského původu obsažený v reagentiích této soupravy měl negativní test na přítomnost protilátek proti viru HIV 1 a 2, viru hepatitidy C a proti povrchovému antigenu hepatitidy B (HBsAg). Žádná z dostupných metod nemůže dát stoprocentní jistotu neinfekčnosti. Je tedy nutné pracovat s těmito reagentiemi jako s potenciálně infekčními.

Se všemi vzorky séra a plazmy musí být manipulováno jako s potenciálně infekčními (hepatitis, nebo AIDS). Veškerý vzniklý odpad je třeba likvidovat podle platných předpisů.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Není klasifikované jako nebezpečné

SDS

Bezpečnostní list je k dispozici na adrese
techdocs.beckmancoulter.com

SBĚR A PŘÍPRAVA, SKLADOVÁNÍ A ŘEDĚNÍ VZORKŮ

- Odebírejte vzorky krve do zkumavek bez aditiv nebo s EDTA.
- Centrifugací oddělte od buněk frakci séra nebo plazmy.
- Vzorky séra a plazmy mohou být skladovány při 2-8 °C po dobu 24 hodin. Při delším skladování je nutno uchovávat vzorky zmrazené (při < -20 °C; maximálně 3 měsíce), nejlépe v alikvotech. Je třeba se vyvarovat opakovaného zmrazování vzorků. Rozmrazování provádějte při laboratorní teplotě.
- Pokud obsahují vzorky i po předředění vyšší koncentraci než je koncentrace nejvyššího kalibrátoru, je třeba je dále zředit diluentem.

Soupravou IM2397 MUC-1 gene associated antigen bylo porovnáno 15 dvojic vzorků séra a EDTA-plazmy (hodnoty sér byly od 11,86 do 165,2 U/ml). Výsledky dávají rovnici:

[EDTA-plazma] = 1,1233 [sérum] - 1,1026

r = 0,9942

POSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Všechny reagentie v soupravě jsou stabilní do data expirace, uvedeného na štítku krabice, jestliže jsou skladovány při 2-8 °C. Data expirací uvedená na štítcích jednotlivých složek se vztahují pouze k dlouhodobému skladování u výrobce před kompletací souprav. Neberte na ně tedy, prosím, ohled.

Souprava pro stanovení CA 15-3, 100 zkumavek (Kat. č. IM2397)

Zkumavky potažené monoklonální protilátkou proti antigenu CA 15-3: 2 x 50 zkumavek; připraveny k použití.

Monoklonální protilátka proti antigenu CA 15-3, značená ¹²⁵I: 1 lahvička (22 ml); připravena k použití.

Lahvička obsahuje ke dni výroby 600 kBq ¹²⁵I značeného imunoglobulinu s hovězím sérovým albuminem, azidem sodným (<0,1 %) a barvivem.

Kalibrátory: 4 lahvičky (po 2 ml) a 1 lahvička (4 ml) „nulového“ kalibrátoru; připraveny k použití.

Lahvičky obsahují lidský antigen CA 15-3 v tlumivém roztoku s hovězím sérovým albuminem a azidem sodným (<0,1 %), koncentrační rozmezí je od 0 do přibližně 250 U/ml. Přesné hodnoty koncentrací jsou uvedeny na štítcích lahviček. Po otevření skladujte při 2-8 °C do data expirace soupravy. Hodnoty kalibrátorů byly nastaveny pomocí vnitřního referenčního materiálu.

Kontrolní vzorek: 1 lahvička (1 ml) (připraven k použití).

Lahvička obsahuje antigen CA 15-3 v lidském séru s azidem sodným (<0,1 %). Koncentrační rozmezí očekávaných hodnot je uvedeno v příloze návodu. Po otevření je možno skladovat po dobu dvou týdnů při 2-8 °C nebo zmrazené při < -18 °C do data expirace soupravy.

Diluent: 1 lahvička (50 ml); připravena k použití.

Lahvička obsahuje hovězí sérový albumin v tlumivém roztoku. Po otevření skladujte při 2-8 °C do data expirace soupravy.

Souprava pro stanovení CA 15-3, 50 zkumavek (Kat. č. B64314)

Zkumavky potažené monoklonální protilátkou proti antigenu CA 15-3: 1 x 50 zkumavek; připraveny k použití.

Monoklonální protilátka proti antigenu CA 15-3, značená ¹²⁵I: 1 lahvička (22 ml); připravena k použití.

Kalibrátory: 4 lahvičky (po 2 ml) a 1 lahvička (4 ml) „nulového“ kalibrátoru; připraveny k použití.

Kontrolní vzorek: 1 lahvička (1 ml) (připraven k použití).

Diluent: 1 lahvička (50 ml); připravena k použití.

VYŽADOVANÉ, ALE NEPOSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Kromě obvyklého laboratorního zařízení je pro analýzu potřebné následující vybavení:

- přesné mikropipety (10 µl; 200 µl, 500 µl),
- opakovací dávkovače (200 µl, 2 ml),
- vibrační míchadlo,
- horizontální nebo orbitální třepačka
- vývěva
- gama-čítač.

VÝSLEDKY

Výsledky se získají interpolací z kalibrační křivky, která slouží pouze pro analýzu těch vzorků, které byly inkubovány společně s kalibrátory.

Kalibrační křivka

Výsledky v sekci kontroly kvality jsou vypočteny za použití křivky *spline* s parametrem určené radioaktivity ($cpm_{kal} - cpm_{kal.0}$) na svislé ose log a koncentrací analytu kalibrátorů na vodorovné ose log (U/ml).

Jiné metody zpracování mohou dávat mírně rozdílné výsledky.

| Celková aktivita: 241 627 cpm | | | | |
|-------------------------------|----------------|-----------|---------|--|
| Kalibrátory | CA 15-3 (U/ml) | cpm (n=3) | B/T (%) | cpm _{kal.} - cpm _{kal.0} |
| 0 | 0 | 215 | 0,09 | - |
| 1 | 15 | 7 414 | 3,07 | 7 199 |
| 2 | 53 | 21 360 | 10,08 | 21 145 |
| 3 | 143 | 42 813 | 17,72 | 42 598 |
| 4 | 279 | 63 497 | 26,28 | 63 282 |

(Příklad typického stanovení, nepoužívejte pro výpočet.)

Vzorky

Pro každý vzorek vyhledejte na svislé ose hodnotu cpm nebo B/T a na vodorovné ose odečtěte odpovídající koncentraci analytu.

Koncentrace naředěných vzorků je třeba opravit použitím faktoru ředění.

Poznámka: Koncentrace kalibrátorů, uvedená na štítcích lahviček, již zahrnuje předředění 1/51. Pokud jsou vzorky v tomto základním ředění, neprovádí se proto žádná korekce ředícím faktorem.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní rozmezí referenčních hodnot. Následující hodnoty zjištěné u zdravých jedinců mají pouze orientační charakter.

| Počet vzorků | Průměr (x) | 95 percentil | 99 percentil |
|--------------|------------|--------------|--------------|
| 160 | 20,3 U/ml | 36 U/ml | 43 U/ml |

Klinická senzitivita Klinická využitelnost soupravy byla ověřena na 170 vzorcích od pacientů s nemetastazujícím karcinomem prsu před léčbou. V této populaci byly nalezeny u 49 pacientů hodnoty převyšující 35 U/ml, což odpovídá klinické senzitivitě 28,8 % v době diagnózy karcinomu prsu.

KONTROLA KVALITY

Správná laboratorní praxe předpokládá řádné a pravidelné používání kontrolních vzorků, aby mohla být zajištěna kontrola kvality stanovených výsledků. Kontrolní vzorky musí být stanoveny naprosto stejným způsobem jako neznámé vzorky a k vyhodnocení výsledků se mají použít vhodné statistické metody.

V případě závažného poškození obalu, nebo jestliže získané výsledky nejsou ve shodě s analytickými parametry stanovení, kontaktujte prosím naše odborné pracovníky. E-mail: imunochem@beckman.com

POSTUP

Příprava reagiencí

Vytemperujte všechny reagenie na laboratorní teplotu.

Ředění patientských a kontrolních vzorků

Stanovované patientské a kontrolní vzorky zředte 1/51 tak, že napipetujete 10 µl vzorku do plastových nebo skleněných zkumavek a poté přidáte 500 µl diluentu. Před stanovením jemně protřepete.

NEŘEĎTE KALIBRÁTORY

Schéma postupu

Nechte reagenie před pipetací vytemperovat na laboratorní teplotu.

| 1. imunologický krok | 2. imunologický krok | Měření |
|--|--|--|
| Do potažených zkumavek postupně přidejte: 200 µl kalibrátoru nebo zředěného kontrolního nebo neznámého vzorku. | Odsajte obsah zkumavek, 2 x promyjte 2 ml destilované vody. Pečlivě odsajte a pak přidejte 200 µl radioindikátoru do všech zkumavek.* | Odsajte obsah zkumavek, 2 x promyjte 2 ml destilované vody (s výjimkou 2 zkumavek pro stanovení celkové aktivity T). Pečlivě odsajte. |
| Inkubujte 2 hodiny při 18-25 °C za stálého třepání (>280 kmitů/min). | Inkubujte 1 hodinu při 18-25 °C za stálého třepání (>280 kmitů/min). | Měřte četnosti (cpm) ve všech zkumavkách po dobu 1 minuty. |

*Napipetujte po 200 µl radioindikátoru do 2 zkumavek pro zjištění celkové aktivity (T).

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

(podrobnosti jsou uvedeny v příloze "APPENDIX")

Vzorová data slouží pouze k ilustrativním účelům. Výsledky získané v jednotlivých laboratořích se mohou lišit.

Mez detekce

Analytická citlivost: 0,15 U/ml

Funkční citlivost: 5,34 U/ml

Specifita: stanovení je specifické pro CA 15-3 antigen.

Přesnost

Intra-assay:

Vzorky séra byly analyzovány 25x v jednom stanovení. Nalezené hodnoty variačních koeficientů nepřesáhly 6,2%.

Inter-assay:

Vzorky séra byly stanoveny v duplikátech v 25 různých stanoveních. Nalezené hodnoty variačních koeficientů nepřesáhly 8,4%.

Správnost

Test ředění

Vzorky séra s vysokou koncentrací antigenu CA 15-3 byly postupně ředěny diluentem. Procento recovery se pohybovalo mezi 80,9% a 101%.

Test „recovery“

Různá množství CA 15-3 antigenu byla přidávána ke vzorkům séra s jeho nízkou koncentrací. Procento recovery se pohybovalo mezi 86% a 108%.

Rozsah stanovení (od analytické citlivosti do nejvyššího kalibrátoru):

0,15 do přibližně 250 U/ml.

OMEZENÍ

Nedodržení instrukcí uvedených v tomto návodu může vést k nesprávným výsledkům. Výsledky stanovení by měly být interpretovány ve světle celkového klinického obrazu pacienta včetně anamnézy, údajů z dalších testů a jiných vhodných informací.

U stanovení využívajících protilátky existuje možnost interference heterofilních protilátek přítomných v patientském vzorku. Pacienti, kteří byli pravidelně ve styku se zvířaty nebo podstoupili imunoterapii nebo diagnostické procedury využívající imunoglobuliny nebo fragmenty imunoglobulinů, mohou produkovat protilátky jako například HAMA (Human Anti-Mouse Antibodies - lidské protilátky proti myším proteinům), které interferují při imunologických stanoveních.

Takové interferující protilátky mohou vést k chybným výsledkům. Výsledky pacientů, u nichž existuje podezření na přítomnost takovýchto protilátek, posuzujte s opatrností.

Interferující látky

Na stanovení nemá vliv přítomnost hemoglobinu (5 mg/ml), triglyceridů (30 mg/ml) a bilirubinu (0,4 mg/ml).

Hook efekt

Při provedení analýzy ve dvou krocích nebyl žádný hook efekt pozorován.

IRMA MUC-1 gene associated antigen (CA 15-3)

REF IM2397, B64314

IN VITRO IMUNORÁDIOMETRICKÉ STANOVENIE ANTIGÉNU ASOCIOVANÉHO S GÉNOM MUC-1 (CA 15-3) V ĽUDSKOM SÉRE A PLAZME

Na *in vitro* diagnostické použitie.

PRINCÍP

Imunorádiometrické stanovenie antigénu asociovaného s génom MUC-1 (CA 15-3) je dvojkrokové stanovenie typu "sandwich". V súprave sú použité myšacie monoklonálne protilátky proti dvom rôznym epitopom molekuly.

Vzorky a kalibrátory sa inkubujú v skúmavkách potiahnutých prvou monoklonálnou protilátkou, skúmavky sa premyjú a inkubujú s druhou monoklonálnou protilátkou, označenou ¹²⁵I. Po tejto druhej inkubácii sa obsah skúmaviek odsaje a nenaviazaná označená protilátka sa odstráni premytím. Viazaná aktivita ¹²⁵I sa potom meria gama-meračom. Koncentrácia CA 15-3 antigénu vo vzorkách je priamo úmerná nameranej rádioaktívite a získa sa interpoláciou z kalibračnej krivky.

Táto súprava je určená na stanovenie CA 15-3 Antigenu ako pomôcka pri starostlivosti o pacientov v karcinome prsníka. Zvýšené koncentrácie môžu byť nájdené v sére alebo plazme pacientov s benignými ochoreniami, ako aj pri karcinome prsníka a iných maligných ochoreniach.

VÝSTRAHA A OPATRENIA

Obecné poznámky:

- Fľaštičky s kalibrátormi a kontrolnými vzorkami môžu byť otvorené čo najkratšiu dobu, aby nedošlo k nežiaducej odpareniu roztoku.
- Nemiešajte substancie zo súprav rôznych šarží.
- Pre každú novú sériu analýz treba urobiť novú kalibráciu.
- Správne nastavenie trepačky je veľmi dôležité pre reprodukovateľnosť stanovení.
- Doporučuje sa robiť stanovenia v duplikátoch.
- Skúmavky sú iba na jedno použitie.

Základné pravidlá radiačnej bezpečnosti

Táto súprava obsahuje rádioaktívny materiál, ktorý môžu prijímať, skladovať a používať iba pracovníci, ktorí spĺňajú platné zákonné predpisy upravujúce podmienky pre bezpečné nakladanie s otvorenými rádionuklidovými zariadeniami. Pri práci s rádioaktívnymi látkami dodržujte nasledujúce pravidlá:

- Všetky rádioaktívne látky sa musia skladovať v pôvodnom balení a iba na miestach k tomu určených.
- Nesmie sa pipetovať ústami.
- Prijem a spotreba rádioaktívnych látok musia byť evidované.
- Práce s rádioaktívnymi látkami sa musia robiť iba vo vyhradených priestoroch.
- V laboratóriách určených na prácu s rádioaktívnymi látkami je zakázané jesť, piť, fajčiť, líčiť sa a pod.
- Obalový materiál, ktorý nie je kontaminovaný, možno odložiť do bežného odpadu až po odstránení výstražných nápisov a značiek.
- Povrch pracovných stolov, ktorý by mohol byť kontaminovaný, treba pravidelne kontrolovať.
- V prípade kontaminácie alebo úniku rádioaktívneho materiálu postupujte podľa stanovených predpisov.
- Rádioaktívny odpad likvidujte v súlade s platnými zákonmi a predpismi.

Azid sodný

Niektoré substancie sú konzervované azidom sodným. Azid sodný môže reagovať s olovom, meďou alebo mosadzou za vzniku príslušných výbušných azidov. Preto likvidované reagenty splachujte veľkým množstvom vody.

Biologický materiál ľudského pôvodu

Materiál ľudského pôvodu obsiahnutý v reagentoch tejto súpravy mal negatívny test na prítomnosť protilátok proti vírusu HIV 1 a 2, vírusu hepatitídy C a proti povrchovému antigénu hepatitídy B (HBsAg). Žiadna z dostupných metód nedáva stopercentnú istotu neinfekčnosti. Je teda nutné pracovať s týmito reagentami ako s potenciálne infekčnými.

So všetkými krvnými vzorkami sa musí manipulovať ako s potenciálne infekčnými (hepatitída alebo AIDS). Všetok vzniknutý odpad treba likvidovať podľa platných predpisov.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Nie je klasifikované ako nebezpečné.

SDS

Bezpečnostný list je k dispozícii na stránkach
techdocs.beckmancoulter.com

ZBER A PRÍPRAVA, SKLADOVANIE A RIEDENIE VZORIEK

- Odoberajte vzorky krvi do skúmaviek bez aditív alebo s EDTA.
- Centrifugáciou oddelíte od buniek frakciu séra alebo plazmy.
- Vzorky séra a plazmy môžu byť skladované pri 2-8 °C po dobu 24 hodín. Pri ďalšom skladovaní je potrebné uchovávať vzorky zmrazené (pri < -20 °C; maximálne 3 mesiace), najlepšie v alikvótoch. Treba sa vyvarovať opakovanému zmrazovaniu vzoriek. Rozmrazovanie robte pri laboratórnej teplote.
- Pokiaľ obsahujú vzorky i po predriedení vyššiu koncentráciu CA 15-3 antigénu ako je koncentrácia najvyššieho kalibrátora, treba ich ďalej riediť diluentom.

Súpravou IM2397 MUC-1 gene associated antigen kit bolo porovnaných 15 dvojíc vzoriek séra a EDTA-plazmy (hodnoty sér boli od 11,86 do 165,2 U/ml). Výsledky dávajú rovnicu:

[EDTA-plazma] = 1,1233 [sérum] - 1,1026

r = 0,9942

POSKYTOVANÝ MATERIÁL

Všetky reagenty v súprave sú stabilné do dátumu expirácie, uvedeného na štítku krabice, ak sú skladované pri 2-8 °C. Dátumy expirácií uvedené na štítkoch jednotlivých zložiek sa vzťahujú iba na dlhodobé skladovanie u výrobcu pred kompletizáciou súprav. Neberte na ne, prosím, ohľad.

Súprava na stanovenie CA 15-3, 100 skúmaviek (Kat. č. IM2397)

Skúmavky potiahnuté monoklonálnou protilátkou proti antigénu CA 15-3: 2 x 50 skúmaviek; pripravené na použitie.

Monoklonálna protilátka proti antigénu CA 15-3 označená ¹²⁵I: 1 fľaštička (22 ml); pripravená na použitie.

Fľaštička obsahuje ku dňu výroby 600 kBq ¹²⁵I označeného imunoglobulínu s hovädzím sérovým albumínom, azidom sodným (<0,1 %) a farbivom.

Kalibrátory: 4 fľaštičky (po 2 ml) a 1 fľaštička (4 ml) „nulového“ kalibrátora; pripravené na použitie.

Fľaštičky obsahujú ľudský antigén CA 15-3 v tmivom roztoku s hovädzím sérovým albumínom a azidom sodným (<0,1 %), koncentračný rozsah je 0 do približne 250 U/ml. Presné hodnoty koncentrácií sú uvedené na štítkoch fľaštičiek. Po otvorení skladujte pri 2-8 °C do dátumu expirácie súpravy. Kalibrátory sú verifikované interným referenčným štandardom.

Kontrolná vzorka: 1 fľaštička (1 ml); pripravená na použitie.

Fľaštička obsahuje antigén CA 15-3 v ľudskom sére s azidom sodným (<0,1 %). Koncentračné rozsahy očakávaných hodnôt sú uvedené v prílohe Návod. Po otvorení ju možno skladovať dva týždne pri 2-8 °C alebo zmrazenú pri < -18 °C do dátumu expirácie súpravy.

Diluent: 1 fľaštička (50 ml); pripravená na použitie.

Fľaštička obsahuje hovädzí sérový albumín v tmivom roztoku. Po otvorení skladujte pri 2-8 °C do dátumu expirácie súpravy.

Súprava na stanovenie CA 15-3, 50 skúmaviek (Kat. č. B64314)

Skúmavky potiahnuté monoklonálnou protilátkou proti antigénu CA 15-3: 1 x 50 skúmaviek; pripravené na použitie.

Monoklonálna protilátka proti antigénu CA 15-3 označená ¹²⁵I: 1 fľaštička (22 ml); pripravená na použitie.

Kalibrátory: 4 fľaštičky (po 2 ml) a 1 fľaštička (4 ml) „nulového“ kalibrátora; pripravené na použitie.

Kontrolná vzorka: 1 fľaštička (1 ml); pripravená na použitie.

Diluent: 1 fľaštička (50 ml); pripravená na použitie.

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ SA NEPOSKYTUJE

Okrem obvyklého laboratórneho zariadenia je pre analýzu potrebné nasledujúce vybavenie:

- presné mikropipety (10 µl; 200 µl, 500 µl),
- opakovacie dávkovače (200 µl, 2 ml),
- vibračné miešadlo,
- horizontálna alebo orbitálna trepačka
- výveva
- gama-merač kalibrovaný na 125l.

VÝSLEDKY

Výsledky sa získajú interpoláciou z kalibračnej krivky, ktorá slúži iba pre analýzu tých vzoriek, ktoré boli inkubované spoločne s kalibrátormi.

Kalibračná krivka

Výsledky uvedené v časti o kontrole kvality boli vypočítané preloženie krivky metódou *spline* v grafe s hodnotami stanovenej rádioaktivity ($cpm_{kal} - cpm_{kal0}$) na logaritmickú vertikálnu os a koncentraciami analytov v kalibrátoroch na logaritmickú horizontálnu os (U/ml).

Iné metódy spracovania môžu dávať mierne rozdielne výsledky.

NERIEĎTE KALIBRÁTOROV

Schéma postupu

Nechajte reagenty pred pipetovaním vytemperovať na laboratórnu teplotu.

| 1. imunologický krok | 2. imunologický krok | Meranie |
|---|--|---|
| Do potiahnutých skúmaviek postupne pridajte: 200 µl kalibrátora alebo zriedenej kontrolnej alebo neznámej vzorky. | Odsajte obsah skúmaviek, 2 x premyte 2 ml destilovanej vody. | Odsajte obsah skúmaviek, 2 x premyte 2 ml destilovanej vody (s výnimkou 2 skúmaviek na stanovenie celkovej aktivity T). |
| | Pozorne odsajte a potom pridajte 200µl rádioindikátora do všetkých skúmaviek.* | Pozorne odsajte. |
| Inkubujte 2 hodiny pri 18-25 °C za stáleho trepania (>280 kmitov/min). | Inkubujte 1 hodinu pri 18-25 °C za stáleho trepania (>280 kmitov/min). | Merajte početnosti (cpm) vo všetkých skúmavkách po dobu 1 minúty. |

*Napipetujte po 200 µl rádioindikátora do 2 skúmaviek na zistenie celkovej aktivity (T).

VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY (podrobnosti sú uvedené v prílohe "APPENDIX")

Vzorové dáta slúžia iba k informačným účelom. Výsledky získané v jednotlivých laboratóriách sa môžu líšiť.

Citlivosť

Analytická citlivosť: 0,15 U/ml

Funkčná citlivosť: 5,34 U/ml

Špecifita: stanovenie je špecifické pre CA 15-3 antigén.

Presnosť

Intra-assay

Vzorky séra boli analyzované 25x v jednom stanovení. Nájdene hodnoty variačných koeficientov nepresiahli 6,2%.

Inter-assay

Vzorky séra boli stanovené v duplikátoch v 25 rôznych stanoveniach. Nájdene hodnoty variačných koeficientov nepresiahli 8,4%.

Správnosť

Test riedenia

Vzorky séra s vysokou koncentráciou antigénu CA 15-3 sa postupne riedili diluentom. Percento recovery sa pohybovalo medzi 80,9% a 101%.

Test „recovery“

Rôzne množstvá CA 15-3 antigénu sa pridávali k vzorkám séra s jeho nízkou koncentráciou. Percento recovery sa pohybovalo medzi 86% a 108%.

Rozsah merania (od analytickej citlivosti po najvyšší kalibrátor):

0,15 do približne 250 U/ml.

OBMEDZENIA

Nedodržanie inštrukcií uvedených v tomto návode môže viesť k nesprávnym výsledkom. Výsledky stanovenia by sa mali interpretovať v súlade s celkovým klinickým obrazom pacienta vrátane anamnézy, údajov z ďalších testov a iných vhodných informácií.

Pri stanoveniach využívajúcich protilátky existuje možnosť interferencie heterofilných protilátok prítomných v patientskej vzorke. Pacienti, ktorí pravidelne prichádzali do kontaktu so zvieratami alebo užívali imunoterapiu, prípadne podstúpili diagnostické procedúry využívajúce imunoglobulíny alebo fragmenty imunoglobulínov, môžu produkovať protilátky, napríklad ľudské protilátky proti myším proteínom (HAMA), ktoré interferujú pri imunologických stanoveniach.

Také interferujúce protilátky môžu mať za následok chybné výsledky. Výsledky pacientov, u ktorých existuje podozrenie na prítomnosť takýchto protilátok, posudzujte s opatnosťou.

| Celková aktivita: 241 627 cpm | | | | |
|-------------------------------|----------------|-----------|---------|---------------------------|
| Kalibrátory | CA 15-3 (U/ml) | cpm (n=3) | B/T (%) | $cpm_{kal} - cpm_{kal.0}$ |
| 0 | 0 | 215 | 0,09 | - |
| 1 | 15 | 7414 | 3,07 | 7199 |
| 2 | 53 | 21 360 | 10,08 | 21 145 |
| 3 | 143 | 42 813 | 17,72 | 42 598 |
| 4 | 279 | 63 497 | 26,28 | 63 282 |

(Príklad typického stanovenia, nepoužívajte pre výpočet.)

Vzorky

Pri každej vzorke vyhľadajte na vertikálnej osi hodnotu cpm alebo B/T a odčítajte príslušnú koncentráciu analytu na horizontálnej osi.

Koncentrácie zriedených vzoriek sa musia skorigovať podľa faktora riedenia.

Poznámka: Koncentrácia kalibrátorov, uvedená na štítkoch fľaštičiek, už zahŕňa predriedenie 1/51. Pokiaľ sú vzorky v tomto základnom riedení, nerobí sa žiadna korekcia riediacim faktorom.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

Každé laboratórium by si malo stanoviť svoje vlastné normálne hodnoty. Uvádzané hodnoty zistené u zdravých jedincov majú iba orientačný charakter.

| Počet jedincov | Priemer (x) | 95 percentil | 99 percentil |
|----------------|-------------|--------------|--------------|
| 160 | 20,3 U/ml | 36 U/ml | 43 U/ml |

Klinická citlivosť Klinická využiteľnosť súpravy bola overená na 170 vzorkách od pacientov s nemetastazujúcim karcinomom prsníka pred liečbou. V tejto populácii boli u 49 pacientov nájdene hodnoty prevyšujúce 35 U/ml, čo odpovedá klinickej senzitivite 28,8 % v dobe diagnózy karcinomu prsníka.

KONTROLA KVALITY

Správna laboratórna prax predpokladá riadne a pravidelné používanie kontrolných vzoriek, aby mohla byť zaistená kontrola kvality stanovených výsledkov. Kontrolné vzorky sa musia stanoviť úplne rovnakým spôsobom ako neznáme vzorky a na vyhodnotenie výsledkov sa majú použiť vhodné štatistické metódy.

V prípade závažného poškodenia obalu, alebo ak získané výsledky nie sú v zhode s analytickými parametrami stanovenia, kontaktujte prosím našich odborných pracovníkov. E-mail: imunochem@beckman.com

POSTUP

Príprava reagentov

Vytemperujte všetky reagenty na laboratórnu teplotu.

Riedenie patientských a kontrolných vzoriek

Stanovované patientské a kontrolné vzorky zriedte 1/51 tak, že napipetujete 10 µl vzorky do plastových alebo sklenených skúmaviek a potom pridáte 500µl diluenta. Pred stanovením jemne pretrepte.

Interferencia

Na stanovenie nemá vplyv prítomnosť hemoglobínu (5 mg/ml), triglyceridov (30 mg/ml) a bilirubínu (0,4 mg/ml).

Hook efekt

Pri uvedenej dvojkrokovej analýze nebol pozorovaný žiadny hook efekt.

IRMA MUC-1 gene associated antigen (CA 15-3)

REF IM2397, B64314

사람 혈청과 혈장 안의 Muc-1 gene associated antigen (CA-15-3)의 시험관 내 측정을 위한 방사선 면역 측정법 체의 진단용으로 사용됩니다.

원리

The MUC-1 gene associated antigen (CA 15-3) 검사법은 상이한 2개의 epitope에 직접 대항하는 2개의 생쥐 단세포 항체를 사용하는 2-step의 샌드위치식 검사법이다.

검체나 표준액은 첫 번째 단일클론 항체로 피복된 코티드 튜브 내에서 배양되고 그 내용물이 흡입되고 검체 내의 CA 15-3은 125I로 표지된 단세포 항체 두 번째 항체와 함께 배양함으로써 나타나게 된다. 두 번째 배양 후, 시험관의 내용물은 흡입되고 비결합형 표지 항체는 세척되어 없어진다. 감마 카운터로 측정된 결합형의 방사능은 CA 15-3 농도와 비례한다. 비직접은 표준곡선의 내삽에 의해 측정되어진다.

이것은 유방암 환자의 관리를 돕기 위한 ca 15-3 항원을 측정하기 위해 사용한다. 양성조건 또는 다른 비종양 장애, 유방암 뿐만 아니라 다른 악성 질병을 가진 환자의 혈청이나 혈장에서 높은 농도가 나타날 수 있다.

경고 및 주의 사항

일반적인 주의

- 표준액과 정도관리용액은 증발을 막기 위해 가능한 짧게 개봉해야 한다.
- 상이한 lot의 kit들을 서로 섞지 않는다.
- 각 측정마다 새로운 표준 곡선이 필요하다.
- shaker의 정확한 세팅은 재현성 실험에 매우 중요하다.
- 2번의 반복 측정이 권장된다.
- 각 튜브는 반드시 한번씩만 사용해야 한다.

방사선 안전에 대한 기본 규칙

방사성 물질의 구입, 소유와 양도는 사용되는 국가의 규제에 따른다. 기본 규칙에 대한 업무는 충분한 보호를 제공한다.

- 방사성 물질이 있는 장소에서는 취식, 음주, 흡연과 화장을 하지 않도록 한다.
- 방사성 용액을 입으로 pipetting 하지 않도록 한다.
- 장갑과 실험복을 착용하여 방사성 물질에 대한 모든 접촉을 피하여라.
- 방사성 물질의 모든 조각은 복도와 다른 바쁜 장소에서 적절한 장소, 거리에서 수행되어야 한다.
- 방사성 물질은 지정된 장소 내에서 제공되는 용기에 보관되어야만 한다.
- 모든 방사성 제품의 수령과 저장에 대한 기록은 최신정보로 갱신하여야 한다.
- 오염이 되기 쉬운 실험실 장비와 유리제품은 다른 종류의 방사성 동위원소와의 교차오염의 예방을 위해 분리 보관되어야 한다.
- 모든 경우의 방사성 오염이나 방사성 물질의 분실은 규정된 절차에 의해 해결되어야만 한다
- 방사성 폐기물은 사용되는 국가에서 규정한 규제에 따라 처리되어야만 한다.

아지드화 나트륨

어떤 시약은 방부제로서 아지드화 나트륨을 포함하고 있다. 아지드화 나트륨은 납, 구리, 황동과 폭발성 요소드화 금속의 형태를 띠는 반응을 일으킬 수 있다. 시약은 많은 양의 물로 씻어내어 배관계통을 통해 처분하라.

사람 기원 물질

본 kit 의 어떤 시약들은 사람으로부터 기인한 것이고 HIV 1, HIV 2와 B형, C형 간염에 대해 음성으로 나타났다. 하지만 전염성을 가진 것처럼 취급하여라. 어떠한 시험방법도 전염성 물질이 없다고 완전히 확신시킬 수는 없다. 이러한 시약들은 잠재적으로 감염성을 가진 것처럼 취급하라.

모든 혈액 검체는 질병을 전염시키는 것으로(예를 들면 간염이나 AIDS) 취급하라.

GHS 유해물질 등급

유해물질로 분류되지 않음

SDS

안전보건자료는 techdocs.beckmancoulter.com에서 이용하실 수 있습니다

표본 채집, 처리, 보관 및 희석

- 건조한 시험관이나 EDTA가 들어간 시험관에 혈액을 수집한다
- 혈청과 혈장은 원심침전법에 의해 분리한다.
- 측정이 24시간 안에 이루어진다면 혈청과 혈장 검체는 2~8°C에 저장해야 한다. 장기간 보존은 냉동 보관한다.(< -20°C; 3 개월 이내) 검체는 냉·해동 반복을 막기 위해 소분한다. 검체는 실온에서 해동시킨다.
- 해동 반복을 막기 위해 소분한다. - 최고 표준액 농도보다 높은 검체는 키트안의 희석액으로 희석한다.

15개의 검체(11.86~ 165.2 U/mL)의 혈청과 EDTA 혈장 값은 IM2397 MUC-1 gene associated antigen Kit 로 비교되었다. 결과값은 다음과 같다:

[혈장] = 1.1233 [혈청] - 1.1026

r = 0.9942

제공되는 품목

Kit 내의 모든 시약은 2~8°C에 저장하면 Kit label에 표기된 유효기간까지 안정하다. 구성 바이알에 표기된 온도와 유효기간은 제조사를 위한 표기이니, 참고하지 마십시오.

CA 15-3 측정을 위한 KIT, 100 tests (Cat. IM2397)

항-CA-15-3 항체로 피복된 시험관 : 2 × 50 tubes(즉시사용가능)

¹²⁵I 표지 단일클론 항체 : 22mL vial 1개(즉시사용가능)

제조당시 한 개의 vial 내에는 소혈청 알부민, 아지드화 나트륨(<0.1 %)과 염색제를 포함한 완충액 내에 ¹²⁵I 표지 단일클론 항체 600kBq을 담고 있다.

표준액 : 2mL vial 4개 + 4mL vial 1개 zero 표준액 (즉시사용가능)

Vial은 소 혈청 알부민과 아지드화 나트륨(<0.1 %) 함께 0에서 250U/mL의 사람 CA-15-3를 포함하고 있다. 정확한 농도는 각각의 vial에 표기되어 있다. 개봉 후에는 vial은 키트 유효기간까지 2~8°C에 보관가능하다. 표준액은 내부 표준기준으로 확인되었다.

정도관리용액: 1mL vial 1개(즉시사용가능)

Vial은 사람혈청아지드화 나트륨 (<0.1 %)의 CA-15-3를 포함하고 있다. 기댓값은 보충자료에 표시된 농도 범위 안에 있다. 개봉 후에는 2주간 2~8°C에 보관 가능하다. 장기간 보관을 위해서는 분할하여 -18°C에 보관한다.

희석액: 50 mL vial 1개 (즉시사용가능)

Vial은 완충액 내에 소혈청 알부민을 포함한다. 개봉 후에는 vial은 유효기간까지 2~8°C에서 보관한다.

CA 15-3 측정을 위한 KIT, 50 tests (Cat. B64314)

항-CA-15-3 항체로 피복된 시험관: 1 × 50 tubes(즉시사용가능)

¹²⁵I 표지 단일클론 항체 : 22mL vial 1개(즉시사용가능)

표준액 : 2mL vial 4개 + 4mL vial 1개 zero 표준액 (즉시사용가능)

정도관리용액: 1mL vial 1개(즉시사용가능)

희석액: 50 mL vial 1개 (즉시사용가능)

필요하지만 제공되지 않는 품목

표준적인 실험실 기기에 부가하여 아래의 항목들이 요구된다.

- 정밀 micropipet (10µL, 200µL, 500µL)
- 반복 micropipets (200µL, 2mL)
- Vortex형 믹서
- 수평 궤도형 shaker
- 흡입용 system
- gamma counter

결과

결과값은 내삽(interpolation)에 의한 표준곡선으로부터 구해진다. 곡선은 표준액과 동시에 측정된 검체 내 CA-15-3 농도를 측정하는데 이용된다.

표준곡선

정도관리 부서의 결과는 대수 수직 축에 결정된 방사능($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$)이 있고 대수 수평 축에 교정물질의 분석물질 농도(U/mL)가 있는 스플라인 곡선 맞춤을 사용하여 산출되었습니다.

다른 데이터의 공제 방법은 다른 결과값을 보여줄 수 있다.

| Total activity: 241,627 cpm | | | | |
|-----------------------------|---------------|-----------|---------|--------------------------|
| Calibrators | CA 15-3(U/mL) | cpm (n=3) | B/T (%) | $cpm_{cal} - cpm_{cal0}$ |
| 0 | 0 | 215 | 0.09 | - |
| 1 | 15 | 7,414 | 3.07 | 7,199 |
| 2 | 53 | 21,360 | 10.08 | 21,145 |
| 3 | 143 | 42,813 | 17.72 | 42,598 |
| 4 | 279 | 63,497 | 26.28 | 63,282 |

(표준곡선의 예, 결과값에는 적용하지 마십시오.)

검체

각 검체별로 세로 축에서 cpm 또는 B/T 값을 찾은 다음 가로 축에서 해당 하는 분석물질 농도를 읽습니다.

희석된 검체의 농도는 희석 배수로 교정해야 합니다.

주의: 각 표준액에 라벨된 농도는 1:51 로 사전 희석된 것을 고려한 것이므로 희석안된 검체 계산시 무시하면 된다.

기대값

각 검사실마다 각자의 참고값을 설정하기를 권장한다. 다음과 같은 범위는 여겨 임상 실험실의 건강한 검체로부터 얻어진 값이다. 수치는 다음과 같다.

| 피험자 수 | Average (x) | 95번째 백분위수 | 99번째 백분위수 |
|-------|-------------|-----------|-----------|
| 160 | 20.3 U/mL | 36 U/mL | 43 U/mL |

임상적 민감도: 임상적 유용성 평가를 위해서, 전이가 안되고 치료 전인 유방암 환자의 170 검체가 측정되었다. 이 결과 35 U/mL 이상 값은 49환자에게 나왔다. 이것은 28.8 %의 유방암 진단의 임상적 민감도와 일치한다.

정도관리

좋은 실험 실습은 control 검체가 결과값의 질을 향상시켜주는데 이용되는 것을 내포한다. 검체들은 측정 검체와 같은 방법으로 처리되어야 하며 적절한 통계방법에 의해서 분석되어진 결과값이 권장된다.

만약 포장에 이상이 있거나 결과값에 문제가 있으면, 공급업체나 다음의 메일로 연락주시기 바랍니다. imunochem@beckman.com

절차

시약의 준비

모든 시약들이 실온에 이르게 한다.

표준액과 정도관리용액의 희석

각 검체와 정도관리용액을 플라스틱 또는 유리 튜브에 10uL | 쓰기 넣고 희석액 500uL를 첨가하여 1/51로 희석한다. 검사 전에 천천히 흔들어서 준다.

표준액은 희석하지 않는다

측정 순서

pipeting하기 전에 모든 시약을 실온에 가져온다.

| 면역 단계1 | 면역 단계2 | 계수 |
|---|---|--|
| 표준액, 희석한 검체 나 희석한 정도관리용액 200μL을 코팅된 튜브에 첨가한다. | 시험관의 내용물을 조심스럽게 흡입하고 2mL의 증류수로 2번 세척한다. | 시험관의 내용물을 조심스럽게 흡입하고 2mL의 증류수로 2번 세척한다. (총 cpm'제외) |
| | 조심스럽게 흡입하고 트레이서 200 μL를 각 튜브에 넣는다. | 조심스럽게 흡입한다 |
| >280rpm으로 흔들며 18-25°C에서 2시간 동안 incubation한다. | >280rpm으로 흔들며 18-25°C에서 1시간 동안 incubation한다 | 결합 CPM(B)과 총 CPM(T)을 1분동안 count한다. |

*총 cpm을 얻기 위한 2개의 시험관에 tracer 200μL를 첨가한다.

성능 특성

(더 자세한 사항은 "APPENDIX"를 참고하세요.)

제시된 자료는 예시 참고용입니다. 각 실험실의 결과들은 다를 수 있습니다.

민감도

분석적 민감도: 0.15 U/mL

기능적 민감도: 5.34 U/mL

특이성: 이 키트는 CA15-3 특이하다.

정밀성

희석 검사

검체들은 같은 종류로 25번 측정된다. 변이계수는 6.2% 나 그 이하에서 보여진다.(혈청)

회수율 검사

검체들은 25가지의 다른 종류로 2번 반복 측정된다. 변이계수는 8.4% 나 그 이하에서 보여진다. (혈청)

정확성

희석 검사

고농도의 혈청 검체들은 희석액으로 연속적으로 희석되었다. 회수율 비율은 80.9 ~ 101% 사이 이었다. (혈청)

회수율 검사

낮은 농도의 검체와 정량의 CA-12가 첨가되었다. 회수율 비율은 86 ~ 108% 사이 이었다. (혈청)

측정범위 (분석적 민감도부터 최고 표준농도까지):

0.15 에서 대략 250 U/mL.

한계

이 사용설명서를 준수하지 아니하면 결과에 크게 영향을 미칠 것이다. 결과는 환자의 임상학적 가족력과 추가되는 실험이나 적절한 정보 등 모든 임상학적 자료를 통해 해석해야 한다.

본 검사에 사용되는 항체는 환자 검체의 헤테로필릭 항체의 간섭을 받을 수 있다. 정기적으로 동물에 노출되거나 면역치료 또는 항체를 생산할 수 있는 면역글로블린 (예: HAMMA)을 이용하는 진단 검사를 받은 환자는 면역검사에 간섭을 받을 수 있다.

이와 같이 간섭을 일으키는 항체는 잘못된 결과를 가져올 수 있습니다. 이러한 항체를 보유한 것으로 의심되는 환자의 결과를 주의해서 평가하십시오.

간섭

이 검사는 triglyceride (30 mg/mL), bilirubin (0.4 mg/mL) 과 hemoglobin (5 mg/mL)에 영향을 받지 않는다.

후크 현상

2-step 방법 사용할 때는 hook effect 현상이 없다.

IRMA MUC-1 gene associated antigen (CA 15-3)

REF IM2397, B64314

İNSAN SERUM VE PLAZMASINDA MUC-1 GENE ASSOCIATED ANTİGEN (CA 15-3)'ÜN İN VİTRO TESPİTİ İÇİN İMMUNORADIOMETRİK TESTTİR *in vitro* diagnostik kullanım içindir.

PRENSİP

CA 15-3 (MUC gene associated antijen) deneyi, molekülün iki ayrı epitopuna yönelmiş iki fare monoklonal antikorunun kullanıldığı iki aşamalı "sandwich" tipi bir testtir.

Numune veya kalibratörler CA 15-3 monoklonal antikor ile kaplanmış tüplerde inkübe edilirler, daha sonra tüp içeriği aspire edilir ve CA 15-3 varlığı, iyot 125 ile işaretlenmiş CA 15-3 monoklonal antikorları ile inkübasyon sonrasında ortaya çıkarılırlar. Bu ikinci inkübasyondan sonra tüp içeriği aspire edilir ve bağlanmamış işaretlenmiş antikorlar yıkanarak uzaklaştırılırlar. Gamma sayacında ölçülen bağlanmış reaktivitenin miktarı, CA 15-3 konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Bilinmeyen değerler, standard eğrisinden interpolasyon yolu ile bulunur.

Bu gereç, meme kanseri hastalarında, CA 15-3 antijeninin ölçülmesinde gerekmektedir. Meme kanseri ve diğer malign hastalıklar yanında, bening durumlarda veya kansere bağlı olmayan bozukluklarda da yüksek serum veya plazma konsantrasyonları görülebilir.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

Genel yorumlar:

- Kalibratör ve kontrol şişeleri, buharlaşmayı önlemek amacıyla mümkün olduğunca kısa süreli açık kalmalıdır.
- Farklı lotlardan kit reaktiflerini karıştırmayınız.
- Her deney için bir standard eğrisi dahil edilmelidir.
- Deneyin aynı şekilde tekrarı için doğru shaker düzeni çok önemlidir.
- Testi duplike olarak çalışmak önerilmektedir.
- Her tüp sadece bir kez kullanılmalıdır.

Radyasyon güvenliği için temel kurallar

Satınalma, sahip olma, kullanma ve radyoaktif materyalin taşınması, kullanılan ülkenin yönetmeliğine tabidir. Radyasyon güvenliğinin temel kurallarına bağlı kalınması, yeterli korumayı sağlayacaktır.

- Radyoaktif materyallerin bulunduğu ortamda yeme, içme, sigara içme, kozmetik uygulaması gibi faaliyetler gerçekleştirilmemelidir.
- Radyoaktif materyallerin pipetlemesi ağızla yapılmamalıdır.
- Eldiven ve laboratuvar kıyafetleri giyerek, radyoaktif materyallerle teması önleyiniz.
- Radyoaktif malzemelerle ilgili bütün işlemler, kalabalık ortamlar ve koridorlardan uzakta uygun bir ortamda gerçekleştirilmelidir.
- Radyoaktif materyaller, bu malzemeler için ayrılmış bir bölümde ve kapalı bir dolapta saklanmalıdır.
- Radyoaktif ürünlerin girişi ve saklanması ile ilgili bir kayıt güncel olarak tutulmalıdır.
- Kontaminasyona uğramış laboratuvar ekipmanları ve tüpler, farklı radyoizotopların çapraz kontaminasyonunu önlemek için ayrı tutulmalıdır.
- Her bir radyoaktif kontaminasyon veya radyoaktif malzeme kayıp vakası, belirlenen prosedürler izlenerek çözülmelidir.
- Radyoaktif atıklar, ülkenin kurallarına uyularak ele alınmalı ve yok edilmelidir.

Sodyum asit

Bazı reaktifler koruyucu olarak sodyum asit içermektedir. Sodyum asit, kurşun, bakır veya pirinç ile reaksiyona girebilir ve patlayıcı metal asitler oluşturabilir. Reaktiflerin, lavabo ve boru sisteminden bol su akıtılarak giderilmesi gerekmektedir.

İnsan kaynaklı materyal

Bu kit içindeki insan kaynaklı materyaller, HIV 1 ve HIV 2 antikorları, HCV antikorları ve Hepatit B yüzey antijenleri (HbsAg) yönünden negatif bulunmuştur. Ancak, hastalık geçirebilecek materyal gibi işlem uygulanmalıdır. Virüs yokluğunu garanti edecek bir metod bulunmamaktadır. Bu kiti, bütün gerekli önlemleri alarak kullanınız.

PI-IM2397-B64314-03

Bütün serum ve plazmalara, hepatitler ve AIDS'i geçirebilecek gibi işlem yapılmalıdır. Atıklar, ülkenin kurallarına göre yok edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Tehlikeli olarak sınıflandırılmamıştır

SDS

Güvenlik Bilgi Formuna techdocs.beckmancoulter.com adresinden ulaşılabilir

NUMUNE TOPLANMASI, SAKLANMASI VE DİLÜSYONU

- Kanı, kuru tüplere veya EDTA içeren tüplere alınır.
- Serum veya plazmayı hücrelerden santrifüjle ayırınız.
- Eğer test 24 saat içinde gerçekleştirilecekse, serum veya plazma numuneleri 2-8°C'de saklanabilir. Daha uzun süre saklanacaksa dondurunuz (< -20°C; 3 ay içinde). Tekrar çözüp dondurma işlemini önlemek için numuneler tüplere ayrılmalıdır. Numunelerin buzu oda ısısında çözündürülmelidir.
- Eğer numuneler en yüksek kalibratörden daha yüksek yoğunluğa sahipse, diluent ile seyreltilmelidir.

15 numunenin serum ve EDTA-plazma değerleri (serum numuneleri 11,86 ile 165,2 U/mL değerleri arasında) IM2397 MUC-1 gene associated antigen Kiti kullanılarak karşılaştırıldı. Sonuçlar aşağıda belirtilmiştir:

[EDTA-plazma] = 1,1233 [serum] - 1,1026

r = 0,9942

SAĞLANAN MALZEMELER

2-8°C'de saklandığında bütün reaktifler, kit etiketindeki son kullanma tarihine kadar stabildir. Şişe üzerindeki son kullanma tarihleri sadece üretici tarafından içeriklerin uzun süreli saklanmaları durumunda geçerlidir.

Kit for determination of CA 15-3, 100 tubes (Cat #IM2397)

Anti-CA 15-3 antikor-kaplanmış tüpler: 2 x 50 tüp (kullanıma hazır)

¹²⁵I-ışaretlenmiş monoklonal antikor: 22 mL bir şişe (kullanıma hazır)

Şişe üretim tarihinde, bovin serum albumin, sodyum asit (<%0,1) ve boya içeren bir tampon içindeki ¹²⁵I-ışaretlenmiş immunoglobulinlerden, 600 kBq içerir.

Kalibratörler: 2 mL dört şişe ve 4 mL bir şişe «sıfır» kalibratörü (kullanıma hazır)

Kalibratör şişeleri, bovin serum albumin ve sodyum asit (<%0,1) içeren tampon içinde 0 ile yaklaşık 250 U/mL insan CA 15-3 içerir. Tam konsantrasyon, şişe üzerindeki etikette belirtilmiştir. Açıldıktan sonra, kalibratörler 2-8°C'de etiketteki son kullanma tarihine kadar stabildir. Kalibratörler, bir internal referans standardına göre doğrulanmıştır.

Kontrol: 1 mL bir şişe (kullanıma hazır)

Şişe, sodyum asit (<%0,1) içeren insan serumunda CA 15-3 içermektedir. Beklenen değerler, ekteki konsantrasyon aralıklarında belirtilmiştir. Açıldıktan sonra şişe 2-8°C'de 2 hafta saklanabilir. Daha uzun süre saklamak için < -18°C'de dondurunuz.

Diluent: 50 mL bir şişe (kullanıma hazır)

Şişe, tampon içinde bovin serum albumin içerir. Açıldıktan sonra şişe, kitin son kullanma tarihine kadar 2-8°C'de saklanabilir.

CA 15-3 tespiti için kit: 50 tüp (Cat. B64314)

Anti-CA 15-3 antikor-kaplanmış tüpler: 1 x 50 tüp (kullanıma hazır)

¹²⁵I-ışaretlenmiş monoklonal antikor: 22 mL bir şişe (kullanıma hazır)

Kalibratörler: 2 mL dört şişe ve 4 mL bir şişe «sıfır» kalibratörü (kullanıma hazır)

Kontrol: 1 mL bir şişe (kullanıma hazır)

Diluent: 50 mL bir şişe (kullanıma hazır)

GEREKLİ OLAN ANCAK SAĞLANMAYAN MALZEMELER

Standard laboratuvar ekipmanlarına ek olarak aşağıdaki malzemeler gerekmektedir:

- Hassas mikropipet (10 µL, 200 µL, 500 µL).
- Yarı-otomatik pipet (200 µL, 2 mL).
- Vorteks tipi mikser.

- Horizontal veya orbital shaker.
- Aspirasyon sistemi.
- gamma counter.

SONUÇLAR

Sonuçlar, standard eğrisinden interpolasyon yoluyla alınır. Eğri, kalibratörlerle aynı anda ölçülen numunedeki CA 15-3 konsantrasyonunu belirlemede hizmet eder.

Standard eğrisi

Kalite kontrol bölümündeki sonuçlar, log dikey ekseninde belirlenmiş radyoaktivite ($\text{sayım/dak}_{\text{Kal}} - \text{sayım/dak}_{\text{Kal0}}$) ve log yatay ekseninde kalibratörlerin analit konsantrasyonu (U/mL) ile *spline* eğri uydurma kullanılarak hesaplanmıştır.

Diğer veri indirgeme metodları biraz farklı sonuçlar verebilir.

| Toplam aktivite: 241.627 sayım/dak | | | | |
|------------------------------------|----------------|-----------------|---------|--|
| Kalibratörler | CA 15-3 (U/mL) | sayım/dak (n=3) | B/T (%) | sayım/ dak _{Kal} - sayım/ dak _{Kal0} |
| 0 | 0 | 215 | 0,09 | - |
| 1 | 15 | 7.414 | 3,07 | 7.199 |
| 2 | 53 | 21.360 | 10,08 | 21.145 |
| 3 | 143 | 42.813 | 17,72 | 42.598 |
| 4 | 279 | 63.497 | 26,28 | 63.282 |

(Standard eğrisi örneği, hesaplamada kullanmayınız)

Numuneler

Her örnek için dikey ekseninde sayım/dak'ı veya B/T değerini bulun ve karşılık gelen analit konsantrasyonunu yatay ekseninde okuyun.

Seyreltilmiş örneklerin konsantrasyonları, seyreltme faktörüyle düzeltilmelidir.

Not: Her kalibratör flakon etiketinde belirtilen konsantrasyon zaten dikkate olmayan bir seyreltilmiş numune konsantrasyonu hesaplanırken, bu nedenle ihmal edilmelidir 1:51 pre-dilüsyon alır.

BEKLENEN DEĞERLER

Her laboratuvarın kendi referans değerlerini oluşturmasını öneririz. Aşağıda verilen değerler sağlıklı kişilerden elde edilmiştir ve sadece belirleyicidir.

| Numune sayısı | Ortalama (x) | 95. Yüzdelik Dilim | 99. Yüzdelik Dilim |
|---------------|--------------|--------------------|--------------------|
| 160 | 20,3 U/mL | 36 U/mL | 43 U/mL |

Klinik duyarlılığa Klinik yararını değerlendirmek için, metastatik olmayan meme kanserli 170 hastanın numunesi tedavi öncesinde test edildi. Bu popülasyonda, 49 hastada 35 U/mL değer bulundu. Bu, meme kanseri teşhisinde marker olarak % 28,8 klinik duyarlılığa karşılık gelmektedir.

KALİTE KONTROL

İyi laboratuvar uygulamaları, alınan sonuçların kalitesini garanti altına almak için kontrol numunelerinin düzenli olarak kullanılmasını gerektirir. Bu numuneler, aynen test numuneleri gibi kullanılmalıdır ve sonuçlarının uygun istatistiksel metodlarla analiz edilmesi önerilmektedir.

Paketteki bozulma veya alınan verilerde değişiklik olduğu durumlarda lütfen yerel distribütörünüzü arayınız veya aşağıdaki e-mail adresini kullanınız. imunochem@beckman.com

PROSEDÜR

Reaktiflerin hazırlanması

Reaktifleri oda ısısına getiriniz.

Numune ve kontrollerin dilüsyonu

Plastik veya cam tüplere 10 µL numune veya kontrolleri pipetleyip, üzerine 500 µL dilüent ekleyerek test edilecek numune ve kontrolleri 1/51 oranında dilüe ediniz.

KALİBRATÖRLERİ DİLUE ETMEYİNİZ

Test prosedürü

Pipetlemeden önce bütün reaktifleri oda ısısına getiriniz.

| İmmunolojik aşama 1 | İmmunolojik aşama 2 | Sayım |
|---|--|--|
| Kaplanmış tüplere ekleyiniz 200 µL kalibratör, dilüe edilmiş numune veya dilüe edilmiş kontrol. | Tüplerin içeriğini aspire ediniz ve 2 mL distile su ile yıkayınız. | Tüplerin içeriğini aspire ediniz ve 2 mL distile su ile yıkayınız (2 " total sayım/dak " tüpü hariç). |
| | Dikkatlice aspire ediniz ve her bir tüpe 200 µL tracer ekleyiniz. | Dikkatlice aspire ediniz. |
| 2 saat, 18-25°C'de (>280 rpm) çalkalayıcıda inkübe ediniz. | 1 saat, 18-25°C'de (>280 rpm) çalkalayıcıda inkübe ediniz. | 1 dakika süresince bağlı sayım/dak (B) ve total sayım/dak (T)'yi sayınız. |

*Total sayım/dak'ı elde etmek için 2 ek tüpe 200 µL tracer ekleyiniz.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

(daha fazla bilgi için ekteki "APPENDIX-EK" veri formuna bakınız)

Temsili veriler yalnızca örnek olarak verilmiştir. Her bir laboratuvarında elde edilen performans farklılık gösterebilir.

Hassasiyet

Analitik duyarlılık: 0,15 U/mL

Fonksiyonel duyarlılık: 5,34 U/mL

Spesifite: Kit CA 15-3'e spesifiktir.

Kesinlik

Dilüsyon testi

Serum numuneler, aynı seride 25 kez test edildi. Değişim katsayısı %6,2'e eşit veya altında bulundu.

Düzeltilme testi

Serum numuneler 25 farklı seride duplike olarak test edildi. Değişim katsayısı %8,4'e eşit veya altında bulundu.

Doğruluk

Dilüsyon testi

Yüksek konsantrasyonlu numuneler dilüent ile seri olarak sulandırıldı. Alınan düzeltme oranı %80,9 ve %101 arasında idi.

Düzeltilme testi

Düşük konsantrasyonlu serum numuneler bilinen miktarda free CA 15-3 ile ekildi. Alınan düzeltme oranı %86 ve %108 arasında idi.

Ölçüm aralığı (analitik duyarlılıktan en yüksek kalibratöre kadar):

0,15 ile yaklaşık 250 U/mL.

SINIRLAMALAR

Bu kullanım kılavuzuna uyulmaması, sonuçları belirgin olarak etkileyebilir. Sonuçlar, klinik hikaye, ek testlerden alınan veriler ve diğer bilgilerin de yer aldığı hastanın toplam klinik durumu ışığında değerlendirilmelidir.

Antikor içeren testlerde, hasta serumu içindeki heterofil antikorlar tarafından interferans olasılığı bulunmaktadır. Hayvanlarla sürekli etkileşimde bulunan hastalar veya immunoterapi gören veya ör. HAMA gibi immunoassay ile etkileşim gösteren immunoglobulinler veya immunoglobulin fragmanlarının kullanıldığı tedavi gören hastalarda antikor oluşturabilir.

Etkileşime giren bu tür antikorlar hatalı sonuçlar üretebilir. Bu antikorlara sahip olduğundan şüphelenen hastaların sonuçlarını dikkatle değerlendirin.

Girişim

Test hemoglobin (5 mg/mL), trigliseridden (30 mg/mL) veya bilirubin (0,4 mg/mL) etkilenmemektedir.

Hook etkisi

İki aşamalı prosedür kullanıldığında hook etkisi bulunmamaktadır.

IRMA MUC-1 gene associated antigen (CA 15-3)

REF IM2397, B64314

НАБОР ДЛЯ ИММУНОРАДИОМЕТРИЧЕСКОГО IN VITRO ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕНА, АССОЦИИРОВАННОГО С ГЕНОМ MUC-1 (CA 15-3), В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА Для диагностики *in vitro*.

ПРИНЦИП

Иммунорадиомертическое определение антигена, ассоциированного с геном MUC-1 (CA 15-3), относится к анализам типа "сэндвич" в котором используется два вида мышиных моноклональных антител к различным эпитопам его молекулы.

Исследуемые образцы, контрольные и калибровочные пробы инкубируют в пробирках, покрытых одним видом моноклональных антител. Затем удаляют содержимое пробирок, промывают, и для выявления наличия антигена CA 15-3 в исследуемом образце проводят еще одну инкубацию с раствором других антител, меченных ¹²⁵I. После окончания инкубации содержимое пробирок удаляют, отмывают несвязанные меченые антитела и измеряют связанную активность ¹²⁵I. Концентрацию CA 15-3, прямо пропорциональную связанной активности, определяют методом интерполяции по калибровочной кривой.

Определение уровня антигена CA 15-3 показано для наблюдения в динамике и контроля эффективности лечения больных раком молочной железы. Повышение концентрации CA 15-3 в сыворотке или плазме крови может определяться как при раке молочной железы и других онкологических заболеваниях, так и при доброкачественных опухолях и различных неонкологических заболеваниях.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Общие замечания:

- Флаконы с калибраторами и контролями следует открывать непосредственно перед использованием, во избежание чрезмерного испарения.
- Не смешивать реагенты из наборов разных серий.
- Анализ калибровочных проб должен проводиться одновременно с исследуемыми образцами.
- для получения воспроизводимых результатов очень важно соблюдать рекомендуемые условия встряхивания пробирок.
- Анализ рекомендуется проводить в дубликатах.
- Пробирки только для одноразового применения.

Основные правила радиационной безопасности

Получение, использование и транспортировка радиоактивных материалов должны происходить в соответствии с принятыми в данной стране нормами радиационной безопасности и санитарными правилами работы с радиоактивными веществами.

- В лабораториях запрещается принимать пищу, курить, пользоваться косметикой.
- Не пипетировать растворы радиоактивных веществ ртом.
- Для ограничения контакта с радиоактивными материалами рекомендуется использовать разовые перчатки и лабораторную спецодежду.
- Все манипуляции с радиоактивными веществами следует проводить в специально оборудованных для этого помещениях, удаленных от мест постоянного пребывания людей.
- Радиоактивные вещества следует хранить с использованием контейнеров в специально отведенных для этого местах.
- Необходимо регистрировать поступление и расход радиоактивных материалов.
- Лабораторное оборудование и посуду следует хранить отдельно, чтобы предотвратить их загрязнение радиоактивными изотопами.
- Любой случай радиоактивного загрязнения или исчезновения радиоактивного материала должен рассматриваться в соответствии с законодательством.

- Утилизация радиоактивных отходов должна осуществляться в соответствии с законодательством.

Азид натрия

Некоторые компоненты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Вступая в реакцию со свинцом, медью и латунью, азид натрия образует взрывоопасные азиды металлов. Отработанные реагенты следует разбавлять большим количеством водопроводной воды, после чего их можно сливать в канализацию.

Материал человеческого происхождения

Материал человеческого происхождения, входящий в состав компонентов набора, не содержит антител к HIV 1, HIV 2, HCV и к поверхностному антигену вируса гепатита В (HBsAg). Тем не менее, ни один из существующих методов анализа не может гарантировать полного отсутствия инфекционных агентов в исследуемом материале. Поэтому при работе с компонентами набора следует соблюдать необходимые меры предосторожности.

С исследуемыми образцами сыворотки или плазмы крови следует обращаться как с потенциально инфекционным материалом, могущим содержать вирусы СПИД и гепатита. Весь использованный материал должен быть уничтожен по действующим государственным правилам и инструкциям.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ GHS

Не классифицируется как опасное вещество



Паспорт безопасности доступен на сайте
techdocs.beckmancoulter.com

ПОЛУЧЕНИЕ, ОБРАБОТКА, ХРАНЕНИЕ И РАЗВЕДЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

- Собрать кровь в чистые сухие пробирки, или пробирки с ЭДТА.
- Отделить сыворотку/плазму от клеток крови центрифугированием.
- Образцы сыворотки и плазмы можно хранить при 2-8°C в течение 24 часов. Для более длительного хранения (до 3 месяцев) их необходимо разделить на аликвоты и заморозить при температуре < -20°C. Избегать повторного замораживания-оттаивания проб. Анализируемые образцы следует размораживать при комнатной температуре.
- Если концентрация CA 15-3 в исследуемом образце выходит за пределы калибровочной кривой, его необходимо развести разбавителем, входящим в состав набора, и провести анализ повторно.

Используя набор IM2397 MUC-1 gene associated antigen сравнили результаты исследований сыворотки и плазмы с ЭДТА в образцах (диапазон значений в сыворотке от 11,86 до 165,2 Е/мл). Были получены результаты:

[плазма с ЭДТА] = 1,1233 [сыворотка] - 1,1026

r = 0,9942

ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Все реагенты стабильны при 2-8°C до окончания срока годности набора, указанного на этикетке. Сроки годности, указанные на этикетках флаконов с реагентами, относятся только к их хранению в производственных условиях вплоть до момента комплектации набора и не распространяются на полученную заказчиком продукцию.

Набор для определения CA 15-3: 100 пробирок (Кат.№ IM2397)

Пробирки, покрытые антителами к CA 15-3: 2 x 50 шт. (готовы к использованию).

Метка, раствор антител к CA 15-3, меченных ¹²⁵I: один флакон, 22 мл (готова к использованию).

На дату изготовления флакон содержит 600 кБк ¹²⁵I-иммуноглобулинов в буфере с бычьим сывороточным альбумином, красителем и азидом натрия (< 0,1%).

Калибровочные пробы: 4 флакона по 2 мл + 1 флакон с 4 мл "нулевой" калибровочной пробы (готовы к использованию).

Калибровочные пробы содержат CA 15-3 человека в диапазоне концентраций от 0 до приблизительно 250 Е/мл в буфере с бычьим сывороточным альбумином и азидом натрия (< 0,1%). Точные

концентрации указаны на этикетках флаконов. Вскрытые флаконы с калибровочными пробами можно хранить при 2-8°C до окончания срока годности набора. Значения калибровочных проб были получены с помощью внутреннего стандарта.

Контрольная сыворотка: один флакон, 1 мл (готова к использованию).

Флакон содержит сыворотку крови человека с известной концентрацией СА 15-3 и азидом натрия (<0,1%). Ожидаемые диапазоны концентраций указаны на дополнительном листке-вкладыше. Вскрытый флакон с контрольной сывороткой можно хранить при 2-8°C в течение 2 недель или при < -18°C до окончания срока годности набора.

Разбавитель: 1 флакон, 50 мл (готов к использованию)

Флакон содержит буферный раствор с бычьим сывороточным альбумином. Вскрытый флакон можно хранить при 2-8°C до окончания срока годности набора.

Набор для определения СА 15-3: 50 пробирок (Кат.№ В64314)

Пробирки, покрытые антителами к СА 15-3: 1 x 50 шт. (готовы к использованию).

Метка, раствор антител к СА 15-3, меченных ¹²⁵I: один флакон, 22 мл (готова к использованию).

Калибровочные пробы: 4 флакона по 2 мл + 1 флакон с 4 мл "нулевой" калибровочной пробы (готовы к использованию).

Контрольная сыворотка: один флакон, 1 мл (готова к использованию).

Разбавитель: 1 флакон, 50 мл (готов к использованию)

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Помимо стандартного лабораторного оборудования необходимо иметь следующее:

- микропипетки (10 мкл, 200 мкл, 500 мкл)
- полуавтоматические пипетки (200 мкл, 2 мл)
- вихревой смеситель типа "vortex"
- горизонтальный или орбитальный встряхиватель
- водоструйный насос
- гамма-счетчик для измерения активности ¹²⁵I.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты рассчитывают методом интерполяции по калибровочной кривой, полученной одновременно с анализом неизвестных образцов.

Калибровочная кривая

Результаты в отделении контроля качества рассчитаны с использованием подбора кривой «сплайн» с установленной радиоактивностью (имп/мин_{cal}-имп/мин_{cal0}) по логарифмической вертикальной оси и концентрацией аналита калибраторов по логистической горизонтальной оси (Е/мл).

Другие методы обсчета могут давать несколько отличающиеся результаты.

| Общий счет: 241 627 имп/мин | | | | |
|-----------------------------|---|-----------------|---------|---|
| Калибраторы | Углеродный раковый антиген СА 15-3 (Е/мл) | Имп./мин. (n=3) | В/Т (%) | имп/мин _{cal} -имп/мин _{cal0} |
| 0 | 0 | 215 | 0,09 | - |
| 1 | 15 | 7 414 | 3,07 | 7 199 |
| 2 | 53 | 21 360 | 10,08 | 21 145 |
| 3 | 143 | 42 813 | 17,72 | 42 598 |
| 4 | 279 | 63 497 | 26,28 | 63 282 |

(Пример типичной калибровочной кривой. Не использовать для обсчета результатов.)

Образцы

Для каждой пробы определите значение имп/мин или В/Т по вертикальной оси и узнайте соответствующую концентрацию аналита по горизонтальной оси.

Значения концентрации разведенных проб следует корректировать на коэффициент разведения.

Примечание: На этикетках флаконов с калибровочными пробами, указаны концентрации с учетом разведения в 51 раз, поэтому никакой коррекции результатов для образцов, разбавленных в том же соотношении, не требуется.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В каждой лаборатории рекомендуется установить собственные значения уровней гистамина, соответствующие нормальным. Приведенные ниже результаты являются всего лишь ориентировочными.

| Количество обследованных | Среднее значение (x) | 95- проце нтиль | 99- проце нтиль |
|--------------------------|----------------------|-----------------|-----------------|
| 160 | 20,3 Е/мл | 36 Е/мл | 43 Е/мл |

Клиническая чувствительность В ходе клинических испытаний было исследовано 170 образцов пациенток, у которых был диагностирован рак молочной железы без метастазов, до назначения лечения. У 49 пациенток этой группы был определен уровень маркера выше 35 Е/мл, что соответствует 28,8% клинической чувствительности.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

В соответствии с требованиями Good laboratory practices для контроля качества проводимых исследований следует регулярно использовать контрольные образцы, которые должны проходить те же стадии анализа, что и анализируемые пробы. Результаты контроля качества рекомендуется обрабатывать с помощью специальных статистических методов.

В случае серьезного повреждения упаковки, или в случае несоответствия полученных результатов аналитическим характеристикам обратитесь, пожалуйста, к нашим специалистам. E-mail: imunochem@beckman.com или beckman.ru@beckman.com

ПРОЦЕДУРА

Подготовка реагентов

Довести все реагенты до комнатной температуры.

Разведение анализируемых образцов и контрольной сыворотки

Развести анализируемые образцы и контрольную сыворотку разбавителем в 51 раз, например, смешать в пластмассовой или стеклянной пробирке 10 мкл образца и 500 мкл разбавителя. Перемешать содержимое пробирок.

НЕ РАЗВОДИТЬ КАЛИБРОВОЧНЫЕ ПРОБЫ

Процедура анализа

Перед использованием довести реагенты до комнатной температуры.

| Иммунологическая стадия 1 | Иммунологическая стадия 2 | Измерение результатов |
|--|--|---|
| В покрытые антителами пробирки последовательно внести: 200 мкл калибровочных проб или разведенных образцов и контрольных сывороток | Удалить содержимое пробирок и промыть их 2 раза по 2 мл дистиллированной воды. Тщательно удалить жидкость и внести в пробирки по 200 мкл метки. | Удалить содержимое пробирок и промыть их 2 раза по 2 мл дистиллированной воды (кроме проб «Т»). |
| Инкубировать 2 часа при 18-25°C и постоянном встряхивании (>280 осц./мин.) | Инкубировать 1 час при 18-25°C и постоянном встряхивании (>280 осц./мин.) | Измерить связанную (В) и общую (Т) активность ¹²⁵ I в течение 1 минуты |

*В две дополнительные пробирки внести по 200 мкл метки для оценки общей активности ¹²⁵I (пробы «Т»).

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

(более подробная информация приведена в разделе "APPENDIX")

Репрезентативные данные предоставлены исключительно для пояснений. Показатели, полученные в конкретной лаборатории, могут отличаться.

Чувствительность

Аналитическая чувствительность: 0,15 Е/мл

Функциональная чувствительность: 5,34 Е/мл

Специфичность: данное определение специфично к СА 15-3.

Воспроизводимость

Внутри анализа:

Анализ образцов сыворотки проводили в 25 репликатах в пределах одной серии определений. Коэффициент вариации измеренных уровней СА 15-3 в сыворотке крови не превышал 6,2%.

Между анализами:

Анализ образцов сыворотки в дубликатах проводили в 25 различных сериях определений. Коэффициент вариации измеренных уровней СА 15-3 в сыворотке крови не превышал 8,4%.

Точность

Тест на разведение

Образцы сыворотки крови с высокой концентрацией СА 15-3 разводили буферным раствором. Процент "открытия" составил от 80,9% до 101%.

Тест на открытие стандартной добавки

Известные количества СА 15-3 добавляли к образцам сыворотки крови с низким его содержанием. Измеренная величина «открытия» составляла от 86% до 108%.

Диапазон определений (от аналитической чувствительности до значения наивысшей калибровочной пробы):

0,15 доприблизительно 250 Е/мл

ОГРАНИЧЕНИЯ

Нарушение методики проведения анализа может привести к искажению результатов исследования. Результаты определения должны быть интерпретированы в свете общей клинической картины пациента, включая анамнез, данные других тестов и подходящую иную информацию.

При выполнении анализов с использованием антител возможна интерференция гетерофильными антителами в пробе пациента. У пациентов, имеющих постоянный контакт с животными или проходивших иммунотерапию или диагностические процедуры с использованием иммуноглобулинов или их фрагментов, могут вырабатываться антитела (т.е. НАМА), которые влияют на результаты иммунного анализа.

Интерференция со стороны этих антител может привести к получению ошибочных результатов. Тщательно проверяйте результаты анализов пациентов с подозрением на наличие этих антител.

Влияющие факторы

На результаты анализа не оказывают влияния повышенные концентрации гемоглобина (5 мг/мл), триглицеридов (30 мг/мл) и билирубина (0,4 мг/мл).

"Хук-эффект"

В двухстадийном методе "хук-эффект" отсутствует.

IRMA Antigen vezan za gen MUC-1 (CA 15-3)

REF IM2397, B64314

IMUNORADIOMETRIJSKI TEST ZA IN VITRO ODREĐIVANJE ANTIGENA VEZANOG ZA GEN MUC-1 (CA 15-3) U HUMANOM SERUMU I PLAZMI

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.

PRINCIP

Određivanje antigena vezanog za gen MUC-1 (CA 15-3) je vrsta dvostepenog "sendvič" testa u kome se koriste dva mišija monoklonska antitela usmerena na dva različita epitopa.

Uzorci ili kalibratori se inkubiraju u epruvetama obloženim prvim monoklonskim antitelom. Sadržaj epruveta se zatim aspiriraju i prisustvo CA 15-3 u uzorku se detektuje inkubacijom sa sekundarnim monoklonskim antitelom obeleženim jodom ¹²⁵. Nakon druge inkubacije, sadržaj epruveta se aspirira i nevezano obeleženo antitelo se eliminiše ispiranjem. Nepoznate vrednosti se određuju interpolacijom sa standardne krive. Koncentracija CA 15-3 u uzorcima je direktno proporcionalna vezanoj radioaktivnosti izmerenoj u gama brojaču.

Ovaj kit je indikovano za upotrebu kod merenja CA 15-3 antigena koa pomoć u tretmanu pacijenata sa kancerom dojki. Povećane koncentracije se mogu naći u serumu ili plazmi pacijenata sa benignim stanjima ili poremećajima ne vezanim za kancer, ali i kod kancera dojke i drugih maligniteta.

UPOZORENJE I MERE OPREZA

Opšte napomene:

- Bočice sa kalibratorima i kontrolama treba da budu otvorene što je kraće moguće da bi se izbeglo prekomerno isparavanje.
- Ne mešati reagense iz kitova različitih lotova.
- Standardna kriva mora biti obuhvaćena sa svakim testom.
- Pravilno podešavanje mešalice je veoma važno za reproducibilnost testa.
- Preporučeno je da se test vrši u duplikatu.
- Svaka epruveta mora da se upotrebi samo jedanput.

Osnovna pravila bezbednosti od radijacije

Kupovina, posedovanje, upotreba i prenos radioaktivnog materijala je predmet regulative zemlje korisnika. Pridržavanje osnovnih pravila bezbednosti od radijacije treba da obezbedi adekvatnu zaštitu:

- Ne treba jesti, piti, pušiti ili nanositi kozmetiku u prisustvu radioaktivnih materijala.
- Ne pipetirati radioaktivni rastvor ustima.
- Izbegavati svaki kontakt sa radioaktivnim materijalom upotrebom rukavica i laboratorijskog kombinezona.
- Sva manipulacija radioaktivnim supstancama treba da se obavi u odgovarajućem prostoru, udaljenom od hodnika i drugih prometnih mesta.
- Radioaktivni materijali treba da se čuvaju u kontejnerima koji su obezbeđeni u označenom prostoru.
- Zapis o prijemu i skladištenju svih radioaktivnih proizvoda treba da se vodi ažurno.
- Laboratorijska oprema i stakleno posuđe koje je podložno kontaminaciji treba da budu razdvojeni da bi se izbegla unakrsna kontaminacija različitim radioizotopima.
- Svaki slučaj radioaktivne kontaminacije ili gubitka radioaktivnog materijala treba da bude rešen u skladu sa ustanovljenim procedurama.
- Postupanje sa radioaktivnim otpadom treba da bude u skladu sa pravilima utvrđenim u zemlji korisnika.

Natrijum azid

Neki reagensi sadrže natrijum azid kao konzervans. Natrijum azid može da reaguje sa olovom, bakrom ili mesingom i da formira eksplozivne metalne azide. Izbaciti reagense ispiranjem sa velikom količinom vode kroz vodovodne instalacije.

Materijali humanog porekla

Materijal humanog porekla, sadržanog u ovom kitu, je negativan na prisustvo antitela na HIV 1 i HIV 2, antitela na HCV, kao i na Hepatitis B površinski

antigen (HBsAg). Štaviše, sa njima treba rukovati kao da su mogući prenosnici bolesti. Ni jedna poznata metoda testiranja ne može u potpunosti potvrditi da virus nije prisutan. Rukujte sa ovim kitom sa svom neophodnom predostrožnošću.

Sa svim uzorcima seruma i plazme treba postupati kao da su sposobni za prenos hepatitisa ili AIDS-a tako da otpad treba odlagati u skladu sa propisima države.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Nije klasifikovano kao opasno



Bezbednosni list je dostupan na internet adresi techdocs.beckmancoulter.com

PRIKUPLJANJE UZORAKA, OBRADA, SKLADIŠTENJE I RAZBLAŽIVANJE

- Krv sakupljati u suvim epruvetama ili epruvetama sa EDTA.
- Odvojite serum ili plazmu od ćelija centrifugiranjem.
- Uzorci seruma i plazme se mogu čuvati na 2-8°C, ako se test izvodi u okviru 24 časa. Za duže skladištenje držite ih zamrznutim (na -20°C najviše 3 meseca). Uzorke treba alikvotirati kako bi se izbeglo ponovljeno zamrzavanje i odmrzavanje. Odmrzavanje uzorka se treba izvoditi na sobnoj temperaturi.
- Ako uzorci imaju koncentraciju veću od najvećeg kalibratora, onda se oni moraju razblažiti rastvorom za razblaživanje iz pakovanja.

Vrednosti seruma i EDTA plazme za 15 uzoraka (vrednosti seruma u rasponu od 11,86 do 165,2 U/ml) su upoređeni korišćenjem IM2397 IRMA kita. Rezultati su sledeći:

[EDTA-plazma] = 1,1233 [serum] - 1,1026

R=0,9942

ISPORUČENI MATERIJALI

Svi reagensi kita su stabilni do isteka roka označenog na etiketi kita, pod uslovom da se čuvaju na 2-8°C. Rokovi odštampani na etiketama bočica važe za dugoročno skladištenje komponenti samo od strane proizvođača, pre sastavljanja kita. Ovo ne uzimajte u obzir.

Kit za određivanje CA 15-3, 100 epruveta (Kat # IM2397)

Epruvete obložene CA 15-3 antitelima: 2 x 50 epruveta (spremnih za upotrebu)

¹²⁵I obeležena monoklonska antitela: jedna bočica od 22 ml (spremna za upotrebu)

Bočica sadrži 600 kBq, na dan proizvodnje, ¹²⁵I-obeleženo imunoglobulina, goveđi serumski albumin, natrijum azid (<0,1%), i boju.

Kalibratori: četiri bočice od 2 ml i jedna bočica od 4 ml "nultog" kalibratora (spremnih za upotrebu)

Bočice sadrže od 0 do približno 250 U/ml humanog CA 15-3 u puferu sa goveđim serumskim albuminom i natrijum azidom (<0,1%). Očekivane vrednosti su navedene u opsegu koncentracija na svakoj etiketi bočice. Nakon otvaranja, bočice se mogu čuvati na temperaturi 2-8°C do isteka roka. Kalibratori se proveravaju prema internom referentnom standardu.

Kontrolni serum: jedna bočica od 1 ml (spremna za upotrebu)

Bočice sadrže humani CA 15-3 u u humanom serumu i natrijum azidom (<0,1%). Očekivane vrednosti su u opsegu koncentracija navedenim na dodatku. Nakon otvaranja bočice čuvati na temperaturi 2-8°C dve nedelje. Za duže čuvanje zamrznuti na -18°C.

Rastvor za diluciju: Jedna bočica od 50 ml (spremna za upotrebu)

Bočica sadrži goveđi serumski albumin u puferu. Nakon otvaranja bočice čuvati na temperaturi 2-8°C do isteka roka trajanja.

Kit za određivanje CA 15-3, 50 epruveta (Kat # B64314)

Epruvete obložene CA 15-3 antitelima: 1x 50 epruveta (spremnih za upotrebu)

¹²⁵I obeležena monoklonska antitela: jedna bočica od 22 ml (spremna za upotrebu)

Kalibratori: četiri bočice od 2 ml i jedna bočica od 4 ml "nultog" kalibratora (spremnih za upotrebu)

Kontrolni serum: jedna bočica od 1 ml (spremna za upotrebu)

Rastvor za diluciju: Jedna bočica od 50 ml (spremna za upotrebu)

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU OBEZBEĐENI

Pored standardne laboratorijske opreme, potrebne su sledeće stavke:

- Precizne mikropipete (10 µl, 200 µl, 500 µl)
- Pipete za ponavljanje (200 µl i 2 ml).
- Vorteks tip miksera.
- Horizontalna ili orbitalni šejker.
- Aspiracioni sistem.
- Gama brojač.

REZULTATI

Rezultati su dobijeni interpolacijom sa standardne krive. Kriva služi za određivanje koncentracije CA 15-3 u uzorcima izmerene u isto vreme kad i kalibratora.

Standardna kriva

Rezultati u odeljenju za kontrolu kvaliteta izračunati su upotrebom *splajn* krive koja ima utvrđenu radioaktivnost ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) na logaritamskoj vertikalnoj osi i koncentraciju analita kalibratora na logaritamskoj horizontalnoj osi (U/ml).

Druge metode redukcije podataka mogu dati neznatno različite rezultate.

| Ukupna aktivnost: 241 627 cpm | | | | |
|-------------------------------|----------------|-----------|---------|--------------------------|
| Kalibrator | CA 15-3 (U/ml) | cpm (n=3) | B/T (%) | $cpm_{cal} - cpm_{cal0}$ |
| 0 | 0 | 215 | 0,09 | - |
| 1 | 15 | 7.414 | 3,07 | 7.199 |
| 2 | 53 | 21.360 | 10,08 | 21.145 |
| 3 | 143 | 42.813 | 17,72 | 42.598 |
| 4 | 279 | 63.497 | 26,28 | 63.282 |

(Primer standardne krive, ne koristiti za proračun)

Uzorci

Za svaki uzorak pronađite vrednost cpm ili B/T na vertikalnoj osi i pročitajte odgovarajuću koncentraciju analita na horizontalnoj osi.

Koncentracije razblaženih uzoraka korigovati za diluicioni faktor.

Napomena: Koncentracija naznačena na svakoj bočici kalibratora već uzima u obzir prediluciju u odnosu 1:51, koja se samim tim mora zanemariti za izračunavanje koncentracija u nerazblaženim uzorcima.

OČEKIVANE VREDNOSTI

Mi preporučujemo je da svaka laboratorija uspostavi svoje vlastite referentne vrednosti. Sledeće vrednosti, dobijene od zdravih lica, su samo indikativne.

| Broj ispitanika | Prosečna vrednost (x) | 95. percentil | 99. percentil |
|-----------------|-----------------------|---------------|---------------|
| 160 | 20,3 U/ml | 36 U/ml | 43 U/ml |

Dijagnostička osetljivost: Za procenu u svrhu kliničke upotrebe testirano je 170 uzoraka pacijenata sa kancerom dojke bez metastaza i pre bilo kakve terapije. Vrednosti iznad 35 U/ml su nadjene kod 49 pacijenata ove populacije. To odgovara kliničkoj osetljivosti markera od 28,8% u vreme postavljanja dijagnoze kancera dojke.

KONTROLA KVALITETA

Dobra laboratorijska praksa nalaže da se kontrolni uzorci moraju redovno koristiti da bi se osigurao kvalitet dobijenih rezultata. Ti uzorci se moraju obraditi na potpuno isti način kao i testirani uzorci, i preporučeno je da se njihovi rezultati analiziraju upotrebom odgovarajućih statističkih metoda.

U slučaju oštećenja pakovanja ili ako dobijeni podaci pokazuju neku promenu performansi, molimo da kontaktirate vašeg lokalnog distributera ili upotrebite sledeću e-mail adresu: imunochem@beckman.com

POSTUPAK

Priprema reagenasa

Neka svi reagensi dostignu sobnu temperaturu.

Razblaživanje uzoraka i kontrola

Razblažiti u uzorke i kontrole u odnosu 1/51, dodavajući 10 µl uzorka ili kontrole u plastičnu ili staklenu epruvetu a zatim u svaku epruvetu dodati 500 µl rastvora za diluciju. Promešati lagano pre testiranja.

KALIBRATORE NE TREBA RAZBLAŽIVATI

Postupak testa

Neka svi reagensi dostignu sobnu temperaturu.

| Imunološki korak 1 | Imunološki korak 2 | Brojanje |
|---|--|---|
| Obložnim epruvetama dodati 200 µl kalibratora, ili razblažene kontrole ili razblaženog uzorka | Aspirirati sadržaj svake epruvete zatim isprati dva puta sa 2 ml desilovane vode | Aspirirati sadržaj svake epruvete zatim isprati dva puta sa 2 ml desilovane vode (izuzev 2 epruvete «ukupan cpm») |
| | Pažljivo aspirirati i zatim dodati 200 µl obeleživača u svaku epruvetu | Pažljivo aspirirati |
| Inkubirajte 120 minuta na 18-25°C uz mešanje (>280 rpm). | Inkubirajte 60 minuta na 18-25°C uz mešanje (>280 rpm). | Brojati skok cpm (B) i ukupan cpm (T) za 1 min |

*Dodati 200 µl obeleživača u 2 dodatne epruvete radi dobijanja ukupnog cpm.

KARAKTERISTIKE PERFORMANSI

(za više detalja, videti "DODATAK")

Reprezentativni podaci su obezbeđeni u svrhu ilustracije. Performanse dobijene u pojedinačnim laboratorijama mogu da variraju.

Osetljivost

Analička osetljivost: 0,15 U/ml

Funkcionalna osetljivost: 5,34 U/ml

Specifičnost: Kit je specifičan za CA 15-3.

Preciznost

Unutar serije

Uzorci seruma su testirani 25 puta u istoj seriji. Ustanovljeni su koeficijenti varijacije manji ili jednaki 6,2%.

Između serija

Uzorci seruma su testirani u duplikatu u 25 različitih serija. Ustanovljeni su koeficijenti varijacije manji ili jednaki 8,4%.

Tačnost

Test razblaživanja

Uzorci seruma visoke koncentracije su serijski razblaživani sa rastvorom za diluciju iz pakovanja. Dobijeni recovery procenti su bili između 80,9% i 101%.

Recovery test

Uzorci seruma sa niskim koncentracijama su mešani sa poznatim količinama CA 15-3. Dobijeni recovery procenti su bili između 86% i 108%.

Opseg merenja (od analitičke osetljivosti do najvišeg kalibratora):

0,15 do približno 250 U/ml.

OGRANIČENJA

Ne pridržavanje instrukcija u ovom uputstvu pakovanja može značajno da utiče na rezultate. Rezultate treba interpretirati u skladu sa celokupnom kliničkom slikom pacijenta, uključujući kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i drugim odgovarajućim informacijama.

Za testove koji upotrebljavaju antitela, postoji mogućnost mešanja od strane heterofilnih antitela u uzorku pacijenta. Pacijenti koji su bili redovno izloženi životinjama ili su primili imunoterapiju ili dijagnostičke procedure koje koriste imunoglobuline ili imunoglobulinske fragmente mogu proizvesti antitela, npr. HAMA, koji utiču na imunotestove.

Takva interferirajuća antitela mogu uzrokovati pogrešne rezultate. Pažljivo procenite rezultate pacijenata za koje se sumnja da imaju ova antitela.

Interferencije

Na test ne utiče hemoglobin (5 mg/ml), trigliceridi (30 mg/ml) i bilirubin (0,4 mg/ml).

Hook-ov efekat

Pri izvođenju dvostepenog postupka nema Hook-ovog efekta.

APPENDIX

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Representative data are provided for illustration only. Performance obtained in individual laboratories may vary.

Specificity

The immunoassay is specific of the MUC-1 gene associated antigen (CA15-3).

Precision

Intra-assay

| Serum | S1 | S2 | S3 |
|--------------------------|-------|-------|-------|
| Number of determinations | 25 | 25 | 25 |
| Mean (U/mL) | 24.95 | 47.43 | 197.9 |
| CV (%) | 4.14 | 6.15 | 5.00 |

| EDTA-Plasma | P1 | P2 | P3 |
|--------------------------|-------|-------|-------|
| Number of determinations | 25 | 25 | 25 |
| Mean (U/mL) | 20.33 | 24.04 | 102.3 |
| CV (%) | 3.26 | 6.57 | 4.81 |

Inter-assays

| Serum | S1 | S2 | S3 |
|--------------------------|-------|-------|-------|
| Number of determinations | 25 | 25 | 25 |
| Mean (U/mL) | 21.97 | 51.88 | 183.4 |
| CV (%) | 5.02 | 8.41 | 6.39 |

| EDTA-Plasma | P1 | P2 | P3 |
|--------------------------|-------|-------|-------|
| Number of determinations | 10 | 10 | 10 |
| Mean (U/mL) | 19.07 | 66.78 | 126.1 |
| CV (%) | 11.44 | 13.62 | 14.30 |

Accuracy

Dilution test

Three serum/EDTA plasma samples were diluted in kit diluent and assayed according to the assay procedure of the kit.

| Serum | Dilution | Measured conc. (U/mL) | Expected conc. (U/mL) | Ratio (%) Measured/Expected |
|-------|----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|
| S1 | - | 268.4 | - | - |
| | 1:2 | 122.5 | 134.2 | 91.33 |
| | 1:4 | 57.85 | 67.09 | 86.23 |
| | 1:8 | 28.55 | 33.54 | 85.11 |
| | 1:16 | 15.46 | 16.77 | 92.18 |
| | 1:32 | 8.19 | 8.39 | 97.66 |
| S2 | - | 339.5 | - | - |
| | 1:2 | 171.7 | 169.8 | 101.2 |
| | 1:4 | 75.07 | 84.88 | 88.45 |
| | 1:8 | 36.45 | 42.44 | 85.89 |
| | 1:16 | 17.17 | 21.22 | 80.92 |
| | 1:32 | 9.29 | 10.61 | 87.56 |
| S3 | - | 228.3 | - | - |
| | 1:2 | 103.6 | 114.2 | 90.76 |
| | 1:4 | 51.42 | 57.08 | 90.09 |
| | 1:8 | 25.79 | 28.54 | 90.37 |
| | 1:16 | 14.22 | 14.27 | 99.65 |
| | 1:32 | 7.15 | 7.13 | 100.2 |

| EDTA Plasma | Dilution | Measured conc. (U/mL) | Expected conc. (U/mL) | Ratio (%) Measured/Expected |
|-------------|----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|
| P1 | - | 214.4 | - | - |
| | 1:2 | 94.73 | 107.2 | 88.38 |
| | 1:4 | 45.03 | 53.59 | 84.03 |
| | 1:8 | 22.50 | 26.80 | 83.97 |
| P2 | - | 251.3 | - | - |
| | 1:2 | 133.8 | 125.7 | 106.4 |
| | 1:4 | 63.06 | 62.84 | 100.4 |
| | 1:8 | 30.58 | 31.42 | 97.33 |
| P3 | - | 215.8 | - | - |
| | 1:2 | 97.81 | 107.9 | 90.67 |
| | 1:4 | 44.96 | 53.94 | 83.36 |
| | 1:8 | 22.34 | 26.97 | 82.84 |
| | 1:16 | 11.08 | 13.48 | 82.17 |

Recovery test

To three sera/EDTA plasma samples containing low CA 15-3 concentrations were added known concentrations of CA 15-3. Samples are assayed according to the kit procedure.

| Serum | Endogen conc. (U/mL) | Added conc. (U/mL) | Expected conc. (U/mL) | Measured conc. (U/mL) | Ratio (%) Measured/Expected |
|-------|----------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|
| S1 | 25.5 | 18.6 | 43.0 | 44.1 | 97.51 |
| | 25.5 | 48.0 | 63.0 | 73.5 | 85.71 |
| | 25.5 | 91.0 | 125 | 116.5 | 107.3 |
| S2 | 27.0 | 18.6 | 44.0 | 45.6 | 96.49 |
| | 27.0 | 48.0 | 74.0 | 75.0 | 98.67 |
| | 27.0 | 91.0 | 123 | 118 | 104.2 |
| S3 | 35.0 | 18.6 | 58.0 | 54.0 | 108.2 |
| | 35.0 | 48.0 | 76.0 | 83.0 | 91.57 |
| | 35.0 | 91.0 | 135 | 126 | 107.1 |

| EDTA Plasma | Endogen conc. (U/mL) | Added conc. (U/mL) | Expected conc. (U/mL) | Measured conc. (U/mL) | Ratio (%) Measured/Expected |
|-------------|----------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|
| P1 | 9.43 | 4.32 | 13.75 | 14.61 | 106.3 |
| | 9.13 | 8.38 | 17.51 | 18.42 | 105.2 |
| | 8.85 | 12.18 | 21.04 | 21.92 | 104.2 |
| P2 | 13.07 | 9.10 | 22.17 | 22.90 | 103.3 |
| | 12.67 | 17.63 | 30.29 | 31.73 | 104.8 |
| | 12.28 | 25.64 | 37.92 | 40.25 | 106.2 |
| P3 | 20.47 | 9.10 | 29.56 | 29.29 | 99.07 |
| | 19.83 | 17.63 | 37.45 | 40.74 | 108.8 |
| | 19.23 | 25.64 | 44.86 | 43.94 | 97.94 |

¹²⁵I Characteristics

T_{1/2} (¹²⁵I) = 1443 h = 60.14 d


| ¹²⁵ I | E (MeV) | % |
|------------------|---------|-----|
| Y | 0.035 | |
| X | 0.027 | 114 |
| | 0.032 | 25 |


Symbols Key

REF Product Reference / Référence du produit / Produktreferenz / Riferimento prodotto / Número de referencia del producto / Referência do produto / Produktreferenz / Κωδικός αναφοράς προϊόντος / 产品参考 / Gaminio nuoroda / Termékszám / Dane referencyjne produktu / Reference k produktu / Referenčné označenie výrobku / 제품 참조 자료 / Úrün Referansı / Ссылка на продукт / Референция за продукт / 產品參考

IVD In Vitro Diagnostic / Diagnostic in vitro / In-vitro-Diagnostikum / Diagnostica in vitro / Para diagnóstico in vitro / Diagnóstico in vitro / InVitro-diagnostik / Για διάγνωση in vitro / 体外诊断 / In vitro diagnostika / In vitro diagnosztikai felhasználásra / Diagnostyka in vitro / Diagnostika in vitro / 체외 진단 / In Vitro Diagnostik / Diagnostika in vitro / Ин vitro диагностика / 體外診斷


CONTENTS Contents / Contenu / Inhalt / Contenuto / Contenido / Conteúdo / Περιεχόμενο / 組成 / Rinkinio sudėtis / Tartalom / Zawartość / Obsah / Obsah / 내용물 / İçindekiler / Содержание / Съдържание / 目錄


 Manufactured by / Fabriqué par / Hergestellt von / Prodotto da / Fabricado por / Tillverkas av / Κατασκευαστής / 制造商 / Gamintojas / Gyártó: / Producent / Vyrobcce / Výrobca / 제조 / Üretici / Изготовлено / Произведено от / 製造商


 Contains sufficient for <n> tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenido suficiente para <n> ensayos / Conteúdo suficiente para "n" ensaios / Räcker till "n" antal tester / Περιεχόμενο επαρκές για "n" εξετάσεις / 含量足够 <n> 次测试 / Turinio pakanka <n> tyrim / <n> teszthez elegendő mennyiséget tartalmaz / Zawartość wystarcza na <n> testów / Lze použít pro <n> testů / Obsah vystačí na <n> testov / <n> 테스트에 대해 충분한 양 포함 / <n> sayida test için yeterlidir / Содержит достаточно для количества тестов: <n> / Съдържа достатъчно за <n> теста / 內容物足夠執行 <n> 次測試

CE CE Mark / Marquage CE / CE-Kennzeichnung / Marchio CE / Mercado CE / Marcação CE / CE-märkning / Σήμανση CE / CE 标志 / CE ženkla / CE jelzés / Znak CE / Značka CE / Označenie CE / CE 표시 / CE İşareti / Маркировка CE / CE маркировка / CE 標識

SDS Safety Data Sheet / Fiche technique santé-sécurité / Sicherheitsdatenblatt / Scheda dati di sicurezza / Hoja de datos de seguridad / Ficha de Dados de Segurança / Säkerhetsdatablad / Φύλλο Δεδομένων Ασφάλειας / 安全数据单 / Saugos duomenų lapas / Biztonsági adatlap / Karta Charakterystyki Bezpieczeństwa / Bezpečnostní list / Bezpečnostný list / 안전보건자료 / Güvenlik Bilgi Formu / Паспорт безопасности / Информационен Лист За Безопасност / 安全性資料表

 Consult Instructions for Use / Consultez le mode d'emploi / Siehe Gebrauchsanweisung / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las Instrucciones de uso / Instruções de utilização / Konsultera bruksanvisning / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / 请参阅使用说明 / Skaitykite naudojimo instrukciją / Olvassa el a használati utasítást / Zapoznać się z instrukcją użycia / Postupujte podle návodu k použití / Prečítajte si návod na použitie / 사용 안내 문의 / Kullanma Talimatına Başvurun / Обратитесь к инструкциям / Вижте Инструкциите за употреба / 請參閱使用說明

 Temperature range(s) / Plage(s) de température / Temperaturbereich(e) / Intervallo/i di temperatura / Intervalo(s) de temperatura / Intervalo(s) de temperatura / Temperaturintervall / Εύρος(-η) θερμοκρασίας / 溫度範圍 / Temperatūros diapazonas (-ai) / Hőmérséklet-tartomány(ok) / Zakres(y) temperatury / Rozsahy teplot / Rozsah(y) teploty / 온도 범위 / Стаклик аралıkları / Диапазон(-ы) температуры / Температурен(ни) диапазон(и) / 溫度範圍

 Caution / Précaution / Achtung / Attenzione / Precaución / Atenção / Försiktighet / Προσοχή / 注意事项 / Įspėjimas / Figyelem / Uwaga / Upozornění / Upozornenie / 주의 / Dikkat / Внимание / 注意

 Expiration Date / Date D'expiration / Verfallsdatum, Verw. bis: / Data Di Scadenza / Fecha De Caducidad / Data de validade / Utgångsdatum / Ημερομηνία λήξης / 失效日期 / Galiojimo data / Lejárati idő / Data ważności / Datum expirace / Datum expirácie / 만료 날짜 / Son Kulanma Tarihi / Срок годности / Срок на годност / 到期日

LOT Lot Number / Numéro de lot / Chargennummer / Numero di lotto / Lote número / Número de lote / Satsnummer / Αριθ. παρτίδας / 批次号 / partijos numeris / Tételszám / Numer seri / Číslo sarže / 로트 번호 / Lot Numarasi / Номер партии / Номер на партида / 批號

 Date of Manufacture / Date de Fabrication / Herstellungsdatum / Data di Fabbricazione / Fecha de Fabricación / Data de Fabrico / Produktionsdatum / Ημερομηνία Παραγωγής / 生产日期 / Pagaminimo Data / Gyártás Dátuma / Data Produkcji / Datum Výroby / Datum Výroby / 제조 일자 / Üretim Tarihi / Дата Производства / Дата на Производство / 製造日期



Biohazard / Risque biologique / Biogefährdung / Rischio biologico / Riesgo biológico / Risco biológico / Biologisk fara / Βιολογικός κίνδυνος / 生物危害 / Biologisk fara / Veszélyes biológiai anyag / Zagrożenie biologiczne / Biologické riziko / Biologické riziko / 생물학적 위험 / Bīyolōjik tehlike / Биологическая опасность / Биологична опасност / 生物危害



Radioactive / Radioactif / Radioaktiv / Radioattivo / Radiactivo / Radioactivo / Radioaktiv / Ραδιενεργό / 放射性 / Radioaktiviojvi medžiaga / Radioaktiv / Radioaktywny / Radioaktivní / Rádioaktívny / 방사성 / Radyoaktif / Радиоактивный / Радиоактивен / 具放射性



Tracer / Traceur / Tracer / Marcato / Trazador / Marcador / Tracer / Ανιχνευτής / 追踪剂 / Atsekamoji medžiaga / Nyomjelző / Znacznik / Radioindikátor / Indikator (tracer) / 트레이서 / Tracer 'lar / метка / Индикатор / 追蹤劑



Calibrator / Calibrateur / Kalibrator / Calibratore / Calibrador / Calibrador / Kalibrator / Βαθμονομητής / 校准品 / Kalibravimo medžiaga / Kalibrátor / Kalibrator / kalibrátor / Kalibrátor / 보정 물질 / Kalibrátor / Калибратор / Калибратор / 校正液



Control / Contrôle / Kontrolle / Controllo / Control / Controllo / Kontrolle / Μέτρηση / 质控品 / Kontrollinè / Kontroll / Kontrola / Kontrola / Kontrola / 정도관리 / Kontrol / Контроль / Контролна / 質控品



Tubes / tubes / Röhrchen / provette / tubos / Tubos de amostra / Provrör / σωληνάρια / 试管 / Mégintüveliai / Csövek / Probówki / Zkumavky / Skúmvavky / 튜브 / Tüpler / пробирки / Bulgarian / 試管



Instruction for Use / Mode d'emploi / Gebrauchsanweisung / Istruzioni per l'uso / Instrucciones de uso / Instruções de utilização / Bruksanvisning / Οδηγίες χρήσης / 使用说明 / Naudojimo instrukcija / Használati utasítás / Instrukcja użycia / Návod k použití / Návod na použitie / 사용 안내 / Kullanma Talimatı / Инструкции / Инструкции за употреба / 使用说明



Diluent, Diuuant, Diüent, Diluente, Diluyente, Diluente, Spädmedel, Αραιωτικό, 稀釋液, Skiediklis, Diluens, Rozcieńczalnik, Redidlo, Riediaci roztok, 희석액, Dilüent, Дилуент, Дилуент, 稀釋劑