

CA 125 II™
¹²⁵I IRMA Kit

For the quantitative determination of
CA 125 antigen in serum

Instruction Manual

Manuel d'Instructions
Testanleitung
Manual de Instrucciones
Manuale di Istruzioni
Felhasználói utasítás
Návod k použití
Εγχειρίδιο οδηγιών

REF: R0053

DiaSorin

Stillwater, Minnesota 55082-0285, U.S.A.

TABLE OF CONTENTS

English	Page 1
Français	8
Deutsch	16
Español	24
Italiano.....	32
Magyar	40
Česky	47
Ελληνικά.....	54

IVD

For professional use only!

Intended Use

In vitro test for the quantitative determination of CA 125™ antigen (OC 125 defined antigen) in serum as well as in EDTA plasma and heparin plasma during follow-up of patients with primary invasive ovarian carcinoma.

Summary and Explanation of the Test

The two antigen determinants defined by the monoclonal antibodies OC125(1) and M11(5) are found on a heterogeneous group of macromolecular glycoproteins (molecular weight 200,000–1,000,000).

These glycoproteins can be detected in most nonmucinous epithelial ovarian carcinomas, besides some fetal tissues (amnion, periderm, derivatives of the coelomic epithelium) and in the epithelium of the fallopian tubes, endometrium, apocrine sweat glands, mammary glands and endocervix.

Elevated CA 125II assay values are found in the serum of most patients with an active ovarian carcinoma in early stages of the disease (4,6).

The diagnostic value of the CA 125II determination lies in the monitoring of the therapy and progression of patients with ovarian carcinoma (9).

Principles of the Procedure

Immunoradiometric assay based upon the "sandwich principle". The high affinity monoclonal antibody M11 and the monoclonal antibody OC 125 are used for the coating of the solid phase (coated tube) and for the tracer.

One-Step Method

Coating antibodies and tracer antibodies react in one reaction step with the CA 125 present in the calibrators or patient samples. Unbound material is removed by a washing step. After washing out the excess tracer the radioactivity bound to the tube wall is measured in a gamma scintillation counter.

Two-Step Method

During the first incubation, the CA 125 present in patient samples and calibrators is bound by the antibody immobilized on the test tube wall. Unbound material is removed by a washing step. During the second incubation, the tracer antibody reacts with the CA 125 already bound. After removal of excess tracer by a second washing step, the radioactivity bound to the tube wall is measured in a gamma scintillation counter.

CA125™ is a trademark of Fujirebio Diagnostics Inc.

CONTENTS Material Provided

Determinations	50
¹²⁵ I-anti-CA 125, monoclonal (mouse), red radioactive content (kBq / μ Ci)	11 mL < 185 /5
6 calibrators A-F (1.0 mL) in human serum albumin	1 set
Assay buffer, blue	22 mL
Diluent (0 U/mL) in human serum albumin	6 mL
Test tubes, coated with anti-CA 125, monoclonal (mouse)	50
Control, human, lyophilic	1 mL

Material required but not provided

- Micropipettes (100 μ L, 200 μ L, 300 μ L, 1000 μ L) with disposable plastic tips
- Vortex mixer
- Manual or automatic washer with aspiration device
- Horizontal shaker
- Gamma scintillation counter
- Alternatively, an appropriate automated analyser system, if available
- Uncoated polystyrene tubes for the dilution of sera and controls
- Purified water

Reagents Containing Iodine-125

This kit contains radioactive material which does not exceed 4.83 μ Ci (179 kBq) of iodine-125. Appropriate precautions and good laboratory practices should be used in the storage, handling, and disposal of this material.

For practitioners or institutions receiving radioisotopes under a general license:

This radioactive material may be received, acquired, possessed and used only by physicians, veterinarians in the practice of veterinary medicine, clinical laboratories or hospitals, and only for in vitro clinical or laboratory tests not involving internal or external administration of the material, or the radiation therefrom, to human beings or animals. Its receipt, acquisition, possession, use and transfer are subject to the regulations and the general license of the U.S. Nuclear Regulatory Commission or of the state with which the Commission has entered into an agreement for the exercise of regulatory authority.

1. Storage of radioactive material should be limited to a specifically designated area.
2. Access to radioactive materials must be limited to authorized personnel only.
3. Do not pipette radioactive material by mouth.
4. Do not eat or drink within designated radioactive work areas.
5. Areas where spills may occur should be wiped up, then washed with an alkali detergent or radiological decontamination solution. Any glassware used must be rinsed completely with water before washing with other laboratory glassware.

For practitioners or institutions receiving radioisotopes under a specific license:
The receipt, use, transfer and disposal of radioactive materials are subject to the regulations and conditions of your specific license.

WARNING: This product contains a chemical known to the State of California to cause cancer.

ATTENTION: Radioactivity printed in the package insert may be slightly different from the radioactivity printed on the box label and on the tracer vial label. The box label and the tracer vial label indicate the actual amount of radioactivity at the calibration date where the package insert indicates the theoretical radioactivity of the kit.

Reagents Containing Sodium Azide

CAUTION: Some reagents in this kit contain sodium azide. Sodium azide may react with lead or copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal, flush with a large volume of water to prevent azide build-up. For further information, refer to "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts," in the Manual Guide-Safety Management No. CDC-22 issued by the Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976.

Preparation of Reagents

Allow test components to reach room temperature (18–25°C) prior to testing and mix thoroughly. **(Do not allow foam to form.)**

Open the control carefully and reconstitute with 1.0 mL of purified water. **(Do not allow foam to form.)** Ensure that lyophilised material adhering to the cap is also dissolved.

Storage of Reagents

Reconstituted control: 1 week at 2–8°C or 4 weeks at –20°C.

Store all other reagents at 2–8°C. Use before the expiry date printed on the packaging.

- **Store upright.**

- **Keep away from direct light.**

Sample Collection, Material and Storage

- Collect samples using standard procedures.
- Sample material: serum, EDTA and heparin plasma
- Storage at 2–8°C: 24 hours
- To store for longer periods, freeze samples at –20°C
- Freezing and thawing samples once does not affect the test results.
- Stored samples should be thoroughly mixed prior to use (vortex mixer).
- Do not use sera which are agglutinated, lipemic, hemolytic, icteric or contaminated.

Interfering Substances

No interference with test results has been observed with concentrations of bilirubin < 0.125 mg/mL, hemoglobin < 500 mg/dL or triglycerides < 12.5 mg/mL.

Procedural Notes

- The individual components of the kit are carefully matched to one another. If any components from different lots are exchanged or mixed up, the manufacturer does not guarantee reliable results.
- Strictly adhere to the sequence of the pipetting steps.
- Set the measuring time to at least 1 minute.
- Observe the quality control guidelines for medical laboratories.
- Avoid microbial contamination of the reagents.

Test Procedure

It is recommended that calibrators and samples are run in duplicate.

If values above the highest calibrator are expected, samples should be further diluted with the diluent (e.g. by dilution factors 10, 100, 1000).

As an alternative to manual performance and evaluation, an appropriate automated analyzer system can also be used at the responsibility of the laboratory.

One-Step Method

1. Pipette 100 μL of calibrator, control or patient sample into the bottom of a coated test tube.
2. Add 200 μL ^{125}I -anti-CA 125, mix (vortex mixer). Do not confuse with the assay buffer (blue).
3. Incubate the tubes for 3 hours (\pm 5 min) at room temperature (18–25°C) on a horizontal shaker.*
4. Aspirate the liquid.
5. Wash all tubes 3 times with 2 mL of purified water.
6. Measure radioactivity (CPM) in all tubes (at least 1 min).

100 μL	Pipette calibrator, control or patient sample into the bottom of a test tube
200 μL	Add ^{125}I -anti-CA 125 Do not confuse with assay buffer (blue)! Mix
3 hrs (\pm 5 min)	Incubate at room temperature (18–25°C) on a shaker* Aspirate
3 x 2 mL	Wash with purified water
1 min	Measure (gamma scintillation counter)

*** Keep agitation conditions constant!**

Optimum:

Amplitude 20 mm = 150 rpm

Amplitude 10 mm = 220 rpm

Amplitude < 8 mm = 300 rpm

Two-Step Method

Alternatively to the one-step protocol, the test may also be performed according to a two-step protocol.

1. Pipette 100 μL each of calibrator, control or patient sample into the bottom of a coated test tube.
2. Add 200 μL assay buffer (blue), mix (vortex mixer).
3. Incubate the tubes for 3h (\pm 5 min) at room temperature (18–25°C) on a horizontal shaker.*
4. Aspirate the liquid.
5. Wash all tubes 3 times with 2 mL purified water.
6. Add 100 μL of assay buffer.**
7. Add 200 μL ^{125}I -anti-CA 125, mix (vortex mixer)**

** Assay buffer and ^{125}I -anti-CA 125 solution may also be pooled (1+2, only in glass containers). 300 μL of this solution can then be pipetted.

8. Leave all tubes for 20 – 24 h at room temperature (18–25°C).
9. Aspirate the liquid.
10. Wash all tubes 3 times with 2 mL of purified water.
11. Measure radioactivity (CPM) in all tubes (at least 1 min.).

100 µL	Pipette calibrator, control or patient sample into the bottom of a test tube
200 µL	Add assay buffer (blue)
3 hrs (± 5 min)	Incubate at room temperature (18–25°C) on a shaker* Aspirate
3 x 2 mL	Wash with purified water
100 µL	Add assay buffer (blue)**
200 µL	Add ¹²⁵ I-anti-CA 125**
20-24 hours	Leave to incubate at room temperature (18–25°C) Aspirate
3 x 2 mL	Wash with purified water
1 min	Measure (gamma scintillation counter)

* Keep agitation conditions constant!

Optimum:

Amplitude 20 mm = 150 rpm

Amplitude 10 mm = 220 rpm

Amplitude < 8 mm = 300 rpm

** Assay buffer and ¹²⁵I-anti-CA 125 solution may also be pooled (1+2, only in glass containers). 300 µL of this solution can then be pipetted.

Calculation of Results

The calibrator curve can be established manually as follows:

1. Determine the mean CPM for each pair of tubes (double determination).
2. Divide the mean CPM of each calibrator (B) by the mean CPM of the highest calibrator (B_{max}) and multiply by 100 in order to obtain the percentage of relative binding ($\%B/B_{max}$) for each calibrator.
3. On semi-log paper, plot the relative bindings of each calibrator ($\%B/B_{max}$) on the Y-axis versus the corresponding concentrations (U/mL) on the X-axis.
4. Sample concentrations (U/mL) can be read directly off the calibrator curve from their corresponding relative binding ($\%B/B_{max}$).

If the radioactivity measured is above that of the highest calibrator, the samples must be diluted with the diluent and tested again. With diluted samples the actual serum concentration and the appropriate dilution factor have to be established.

The instrumental calculation of radioimmunological measured values is performed using a spline approximation.

Quality Control

Observe the quality control guidelines for medical laboratories.

Validity and precision of the results should be checked with control sera or pool sera prepared by the laboratory.

The control included with the kit is well suited for in-house quality control in the laboratory. This control should be simultaneously tested with each test run and treated like patient samples. The range of concentrations of each control is reported on the certificate of analysis and indicates the limits established by DiaSorin for control values that can be obtained in reliable assay runs.

Interpretation of the Results

Evaluations of 372 subjects have confirmed the reference range of 35 U/mL for obviously healthy subjects (n=25) given in the literature (12).

Variations from these concentrations have been found, however, depending on age (2) and menstrual cycle (11).

Since CA 125 values may vary depending on the laboratory method used, each laboratory should establish its own reference range.

Limitations of the Procedure

Patients with carcinomas may exhibit CA 125II assay values below the cut-off.

Elevated values may be observed in patients with benign diseases such as pericarditis, severe liver diseases, severe endometriosis, ovarian cysts or with carcinoma of the uterus, pancreas, liver or lung (3,8,10). In pregnancy, CA 125II assay values may also rise above the cut-off (7).

CA 125II levels alone may therefore not be used as proof of the presence or exclusion of a malignant disease and should only be interpreted in conjunction with the clinical picture and other diagnostic procedures.

HAMA

Patient samples containing human anti-mouse antibodies (HAMA) may in principle lead to falsely elevated or decreased values. HAMA-neutralizing agents are added to the test. However the influencing of results cannot be completely ruled out. These samples should not be used for the CA 125 II IRMA.

Analytical Data

Calibration

The CA 125II IRMA has been calibrated using the CA 125II assay from Fujirebio.

Measuring range

Measuring range is 1 - 500 U/mL.

High-dose hook

With the one step method no high-dose hook effect was observed for concentrations up to 50,000 U/mL, whereas with the two step method no high dose hook was found for a concentration up to 100,000 U/mL.

Precision

Intra-assay variation			Inter-assay variation		
Mean value (U/mL)	CV (%)	n=	Mean value (U/mL)	CV (%)	n=
42	4.0	9	44	4.8	13
97	4.1	9	98	7.7	10
339	5.5	9	309	6.1	5

Analytical sensitivity

The lower detection limit is < 1.0 U CA 125/mL. This detection limit is defined as a value exceeding the zero standard by three standard deviations; it is the lowest CA 125II concentration that can be differentiated from zero with statistical significance.

Specificity

Interferences with drugs

No cross-reactivities with cyclophosphamide, doxorubicin, fluorouracil, methotrexate and tamoxifen in therapeutic ranges were found.

Linearity upon Dilution

A patient's serum was diluted with diluent and then measured. The measured values were compared with expected values obtained from linear regression.

Original concentration: 298.3 U/mL

Dilution	Measured value (U/mL)	Expected value (U/mL)	Recovery (%)
1 : 1.25	223	219	102
1 : 2.5	114	112	101
1 : 5	64	59	108
1 : 10	31	33	95

Recovery

A patient's serum with low CA 125 content was spiked with different amounts of CA 125.

Original concentration: 35.2 U/mL

Measured value (U/mL)	Expected value (U/mL)	Recovery (%)
326	327	99
152	152	100
91	94	97
64	65	99

IVD

Pour usage professionnel uniquement!

Indication

Test *in vitro* pour la détermination quantitative de l'antigène CA 125™ (antigène défini OC 125) dans le sérum et dans le plasma prélevé sur EDTA et le plasma hépariné dans le cadre du suivi des patientes atteintes de carcinome primaire invasif de l'ovaire.

Résumé et explication du test

Les deux déterminants antigéniques définis par les anticorps monoclonaux OC125(1) et M11(5) se rencontrent sur un groupe hétérogène de glycoprotéines macromoléculaires (poids moléculaire 200.000 à 1.000.000).

Ces glycoprotéines peuvent être détectées dans la plupart des carcinomes non mucineux de l'épithélium ovarien, ainsi que dans un certain nombre de tissus fœtaux (amnios, périderme, dérivés de l'épithélium coelomique) et au niveau de l'épithélium des trompes de Fallope, de l'endomètre, des glandes sudoripares apocrines, des glandes mammaires et de l'endocervix.

On retrouve des valeurs élevées pour le dosage CA 125II dans le sérum de la plupart des patientes atteintes d'un carcinome ovarien actif aux stades précoces de la maladie (4,6).

La valeur diagnostique de la trousse de dosage CA 125II se situe au niveau du suivi de la thérapie et de l'évolution de patientes atteintes de carcinome ovarien (9).

Principes de la procédure

Dosage radio-immunométrique basé sur le "principe du sandwich". L'anticorps monoclonal à haute affinité M11 et l'anticorps monoclonal OC 125 sont utilisés pour l'enrobage de la phase solide (tube enduit) et pour le traceur.

Méthode en une étape

Les anticorps destinés à l'enrobage et les anticorps traceurs réagissent au cours d'une étape réactionnelle unique avec le CA 125 présent dans les étalons ou dans les échantillons des patientes. Le matériau non lié est éliminé par une étape de lavage. Après lavage de l'excès de traceur, on mesure la radioactivité liée aux parois du tube dans un compteur à scintillation gamma.

Méthode en deux étapes

Au cours de la première incubation, le CA 125 présent dans les échantillons des patientes et dans les étalons est lié par l'anticorps immobilisé sur les parois du tube à essai. Le matériau non lié est éliminé par une étape de lavage. Au cours de la seconde incubation, l'anticorps traceur réagit avec le CA 125 déjà lié.

Après élimination de l'excès de traceur par une seconde étape de lavage, on mesure la radioactivité liée aux parois du tube dans un compteur à scintillation gamma.

CA125™ est un nom déposé de Fujirebio Diagnostics Inc.

CONTENU Matériel fourni

Déterminations	50
¹²⁵ I-anti-CA 125, monoclonal (souris), rouge	11 mL
Teneur en radioactivité (kBq / μ Ci)	< 185 /5
6 étalons A-F (1,0 mL) dans de la sérumalbumine humaine	1 trousse
Tampon de dosage, bleu	22 mL
Diluant (0 U/mL) dans la sérumalbumine humaine	6 mL
Tubes de test, enduits d'anti-CA 125, monoclonal (souris)	50
Contrôle, humain, lyophilisé	1 mL

Matériel requis mais non fourni

- Micropipettes (100 μ L, 200 μ L, 300 μ L, 1000 μ L) avec embouts en plastique jetables
- Agitateur-mélangeur Vortex
- Système de lavage manuel ou automatique avec dispositif d'aspiration
- Mélangeur horizontal
- Compteur à scintillation gamma
- On peut également utiliser un système d'analyseur approprié si l'on dispose d'un tel système
- Tubes en polystyrène non enduits pour la dilution des sérums et contrôles
- Eau purifiée

Réactifs contenant de l'iode 125

Cette trousse contient un produit radioactif qui ne dépasse pas 4,83 μ Ci (179 kBq) d'iode-125. Les précautions appropriées et les bonnes pratiques de laboratoire doivent être respectées lors de la conservation, de la manipulation et de l'élimination de ce produit.

Pour les praticiens ou les établissements recevant des radio-isotopes dans le cadre d'une licence générale:

Ce produit radioactif peut être reçu, réceptionné, détenu et utilisé uniquement par des médecins, des laboratoires cliniques, des hôpitaux, des vétérinaires et uniquement pour des analyses cliniques ou de laboratoire in vitro n'impliquant pas l'administration interne ou externe du produit, ni par rayonnement, à l'homme ou à l'animal. Sa réception, son acquisition, sa détention, son utilisation et son transfert sont soumis aux réglementations et à la licence générale de l'U.S. Nuclear Regulatory Commission ou de l'état avec lequel la Commission a conclu un accord pour l'exercice de l'autorité réglementaire.

1. Le produit radioactif doit être conservé à un endroit désigné.
2. L'accès aux produits radioactifs doit être limité au personnel autorisé uniquement.
3. Ne pas pipeter des solutions radioactives avec la bouche.
4. Ne pas manger, ni boire dans les zones de travail radioactives.
5. En cas de déversement de produits radioactifs dans une zone, nettoyer la zone, puis la laver à l'aide d'un produit détergent à base d'alcali ou d'une solution de décontamination radiologique. Tout article de verre utilisé doit être entièrement lavé à l'eau avant de laver les autres articles de verre du laboratoire.

Pour les praticiens ou les établissements recevant des radio-isotopes dans le cadre d'une licence spécifique :

La réception, l'utilisation, le transfert et la mise au rebut de produits radioactifs sont sujets aux réglementations et conditions de votre licence spécifique.

AVERTISSEMENT : Ce produit contient un produit chimique connu dans l'État de Californie comme étant cancérigène.

ATTENTION : La radioactivité imprimée sur la notice d'utilisation peut être légèrement différente de celle qui est imprimée sur l'étiquette de la boîte et sur l'étiquette du flacon du traceur. Les étiquettes de la boîte et du flacon du traceur indiquent la dose réelle de radioactivité à la date de calibrage, alors que la notice d'utilisation indique la radioactivité théorique de la trousse.

Réactifs contenant de l'azide de sodium

ATTENTION : Certains réactifs de cette trousse contiennent de l'azide de sodium. L'azide de sodium peut réagir avec la plomberie en plomb ou en cuivre et former des azotures ultra-explosifs. Pour leur élimination, rincer à grande eau pour empêcher l'accumulation d'azide. Pour plus d'informations, consulter "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts", dans le manuel Guide-Safety Management n° CDC-22 publié par les Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976.

Préparation des réactifs

Laisser tous les composants du test atteindre la température ambiante (18–25°C) avant le test et bien mélanger. (**Éviter la formation de mousse.**)

Ouvrir précautionneusement le contrôle et le reconstituer avec 1,0 mL d'eau purifiée. (**Éviter la formation de mousse.**) Veiller à ce que le produit lyophilisé qui adhère au bouchon soit également dissous.

Stockage des réactifs

Contrôle reconstitué: 1 semaine à 2–8°C ou 4 semaines à –20°C.

Conserver tous les autres réactifs à 2–8°C. Utiliser avant la date de péremption figurant sur l'emballage.

- **Conserver à l'endroit.**

- **Protéger de la lumière directe.**

Prélèvement des échantillons, matériel et stockage

- Prélever les échantillons selon les procédures standard.

- Type d'échantillons: sérum, plasma prélevé sur EDTA et sur héparine

- Stockage à 2–8°C: 24 heures

- Pour les conserver pendant de plus longues périodes, congeler les échantillons à –20°C

- Un cycle de congélation-décongélation des échantillons n'affecte pas les résultats du test.

- Les échantillons conservés doivent être soigneusement mélangés avant utilisation (agitateur-mélangeur Vortex).

- Ne pas utiliser des sérums agglutinés, lipémiques, hémolytiques, ictériques ou contaminés.

Substances interférentes

Aucune interférence avec les résultats du test n'a été observée pour des concentrations de bilirubine < 0,125 mg/mL, d'hémoglobine < 500 mg/dL ou de triglycérides < 12,5 mg/mL.

Remarques concernant la procédure

- Les composants individuels de la trousse sont parfaitement appariés les uns aux autres. Si l'on intervertit ou que l'on mélange des composants de différents lots, le fabricant ne garantit pas la fiabilité des résultats.
- Respecter scrupuleusement la séquence des étapes de pipetage.
- Régler le temps de mesure sur au moins 1 minute.
- Respecter les directives de contrôle qualité à l'usage des laboratoires médicaux.
- Éviter toute contamination microbienne des réactifs.

Procédure de test

Il est conseillé d'analyser les étalons et les échantillons en double.

Si l'on s'attend à des valeurs supérieures à celles de l'étalon le plus haut, diluer les échantillons avec le diluant (en utilisant par exemple des facteurs de dilution de 10, 100, 1000).

Plutôt que de réaliser et d'évaluer manuellement le dosage, on peut également utiliser un système d'analyseur automatisé, cela sous la responsabilité du laboratoire.

Méthode en une étape

1. Pipeter 100 µL d'étalon, de contrôle ou d'échantillon de patient dans le fond d'un tube à essai enduit.
2. Ajouter 200 µL de ¹²⁵I-anti-CA 125, mélanger (agitateur-mélangeur Vortex). Ne pas confondre avec le tampon de dosage (bleu).
3. Incuber les tubes pendant 3 heures (± 5 min) à température ambiante (18–25°C) sur un mélangeur horizontal.*
4. Aspirer le liquide.
5. Laver tous les tubes 3 fois avec 2 mL d'eau purifié.
6. Mesurer la radioactivité (CPM) de tous tubes (pendant au moins 1 minute).

100 µL	Pipeter l'étalon, le contrôle ou l'échantillon de patient dans le fond d'un tube à essai
200 µL	Ajouter le ¹²⁵ I-anti-CA 125 Ne pas confondre avec le tampon de dosage (bleu)! Mélanger
3 heures (± 5 min)	Incuber à température ambiante (18–25°C) sur un mélangeur* Aspirer
3 x 2 mL	Laver avec de l'eau purifiée
1 min	Mesurer (compteur à scintillation gamma)

* **Conserver des conditions d'agitation constantes !**

Optimum :

Amplitude 20 mm = 150 rpm

Amplitude 10 mm = 220 rpm

Amplitude < 8 mm = 300 rpm

Méthode en deux étapes

Au lieu d'utiliser le protocole en une seule étape, on peut également réaliser le test selon un protocole en deux étapes.

1. Pipeter 100 µL d'étalon, de contrôle ou d'échantillon de patient dans le fond d'un tube à essai enduit.
2. Ajouter 200 µL de tampon de dosage (bleu), mélanger (agitateur-mélangeur Vortex).
3. Incuber les tubes pendant 3 heures (\pm 5 min) à température ambiante (18–25°C) sur un mélangeur horizontal.*
4. Aspirer le liquide.
5. Laver tous les tubes 3 fois avec 2 mL d'eau purifié.
6. Ajouter 100 µL de tampon de dosage.**
7. Ajouter 200 µL de ^{125}I -anti-CA 125, mélanger (agitateur-mélangeur Vortex)**
8. Laisser tous les tubes pendant 20 à 24 heures à température ambiante (18–25°C).
9. Aspirer le liquide.
10. Laver tous les tubes 3 fois avec 2 mL d'eau purifié.
11. Mesurer la radioactivité (CPM) de tous tubes (pendant au moins 1 minute.).

100 µL	Pipeter l'étalon, le contrôle ou l'échantillon de patient dans le fond d'un tube à essai enduit
200 µL	Ajouter le tampon de dosage (bleu)
3 hrs (\pm 5 min)	Incuber à température ambiante (18–25°C) sur un mélangeur* Aspirer
3 x 2 mL	Laver avec de l'eau purifiée
100 µL	Ajouter le tampon de dosage (bleu)**
200 µL	Ajouter le ^{125}I -anti-CA 125**
20-24 heures	Laisser incuber à température ambiante (18–25°C) Aspirer
3 x 2 mL	Laver avec de l'eau purifiée
1 min	Mesurer (compteur à scintillation gamma)

* Conserver des conditions d'agitation constantes !

Optimum :

Amplitude 20 mm = 150 rpm

Amplitude 10 mm = 220 rpm

Amplitude < 8 mm = 300 rpm

** Le tampon de dosage et la solution de ^{125}I -anti-CA 125 peuvent également être mélangés (1+2, uniquement dans des récipients en verre). On peut ensuite pipeter 300 µL de cette solution.

Calcul des résultats

On peut tracer la courbe d'étalonnage manuellement en procédant comme suit :

1. Déterminer les CPM moyens pour chaque paire de tubes (détermination en double).
2. Diviser les CPM moyens de chaque étalon (B) par les CPM moyens de l'étalon le plus élevé (B_{max}) et multiplier par 100 pour obtenir le pourcentage de liaison relative ($\%B/B_{max}$) pour chaque étalon.
3. Sur papier semi-logarithmique, reporter les liaisons relatives de chaque étalon ($\%B/B_{max}$) sur l'axe Y et les concentrations correspondantes (U/mL) sur l'axe X.
4. On peut lire les concentrations des échantillons (U/mL) directement sur la courbe d'étalonnage à partir de la liaison relative correspondante ($\%B/B_{max}$).

Si la radioactivité mesurée dépasse celle de l'étalon le plus élevé, diluer les échantillons avec le diluant et recommencer le test. Avec des échantillons dilués, il est nécessaire de déterminer la concentration réelle dans le sérum et le facteur de dilution approprié.

Le calcul automatique des valeurs radio-immunologiques mesurées s'effectue au moyen d'une approximation utilisant une courbe cubique.

Contrôle de qualité

Respecter les directives de contrôle de qualité à l'usage des laboratoires médicaux.

Il convient de contrôler la validité et la précision des résultats au moyen de sérums de contrôle ou de pools de sérums préparés par le laboratoire.

Le contrôle inclus dans la trousse convient parfaitement pour le contrôle de qualité interne au sein du laboratoire. Ce contrôle doit être analysé en même temps que chaque série de tests et traité de la même manière que les échantillons de patients. La plage de concentrations pour chaque contrôle est indiquée dans le certificat d'analyse et indique les limites établies par DiaSorin pour les valeurs de contrôle qui peuvent être obtenues dans des séries analytiques fiables.

Interprétation des résultats

L'évaluation de 372 sujets a confirmé l'intervalle de référence de 35 U/mL pour des sujets manifestement en bonne santé (n=25) cité dans la littérature (12).

On a néanmoins observé des variations par rapport à ces concentrations en fonction de l'âge (2) et du cycle menstruel (11).

Comme les valeurs de CA 125 sont susceptibles de varier en fonction de la méthode utilisée par le laboratoire, chaque laboratoire doit établir sa propre plage de valeurs de référence.

Limites du dosage

Les patientes atteintes de carcinomes peuvent présenter des valeurs du dosage CA 125II inférieures au seuil.

On peut observer des valeurs élevées chez des patientes atteintes de maladies bénignes telles que péricardite, pathologies hépatiques sévères, endométriose sévère, kystes ovariens ou de carcinome de l'utérus, du pancréas, du foie ou du poumon (3,8,10). Pendant la grossesse, les valeurs du dosage de CA 125II peuvent également augmenter jusqu'à dépasser le seuil (7).

Les taux de CA 125II seuls ne constituent donc pas une preuve suffisante de la présence ou de l'exclusion d'une pathologie maligne et ces résultats doivent être interprétés en association avec le tableau clinique et avec d'autres procédures diagnostiques.

Anticorps humains anti-souris

Les échantillons de patients contenant des anticorps humains anti-souris (HAMA) risquent en principe de fournir des résultats faussement élevés ou bas. Des agents neutralisant les anticorps humains anti-souris sont ajoutés au test. On ne peut néanmoins pas exclure totalement une influence sur les résultats. De tels échantillons ne doivent pas être utilisés pour le dosage CA 125 II IRMA.

Données analytiques

Étalonnage

La trousse CA 125II IRMA a été étalonnée au moyen du dosage CA 125II de Fujirebio.

Plage de mesure

La plage de mesure est de 1 à 500 U/mL.

Infléchissement pour des doses élevées

Avec la méthode en une étape, aucun effet d'infléchissement pour des doses élevées n'a été observé pour des concentrations allant jusqu'à 50.000 U/mL, tandis qu'avec la méthode en deux étapes, aucun effet d'infléchissement pour des doses élevées n'a été observé pour des concentrations allant jusqu'à 100.000 U/mL.

Precision

Variation intra-essai			Variation entre les essais		
Valeur moyenne (U/mL)	CV (%)	n=	Valeur moyenne (U/mL)	CV (%)	n=
42	4,0	9	44	4,8	13
97	4,1	9	98	7,7	10
339	5,5	9	309	6,1	5

Sensibilité analytique

La limite inférieure de détection est < 1,0 U de CA 125/mL. Cette limite de détection est définie comme la valeur dépassant l'étalon zéro de trois écarts-type; il s'agit de la plus faible concentration de CA 125II pouvant être distinguée de zéro de manière statistiquement significative.

Spécificité

Interférences avec des médicaments

Aucune réactivité croisée n'a été observée avec la cyclophosphamide, la doxorubicine, le fluorouracile, le méthotrexate et le tamoxifène aux doses thérapeutiques.

Linéarité après dilution

Un sérum de patient a été dilué avec du diluant, puis dosé. Les valeurs mesurées ont été comparées aux valeurs attendues obtenues par régression linéaire.

Concentration originale: 298,3 U/mL

Dilution	Valeur mesurée (U/mL)	Valeur escomptée (U/mL)	Récupération (%)
1 : 1,25	223	219	102
1 : 2,5	114	112	101
1 : 5	64	59	108
1 : 10	31	33	95

Récupération

Un sérum de patient avec une faible teneur en CA 125 a été dopé avec différentes quantités de CA 125.

Concentration originale: 35,2 U/mL

Valeur mesurée (U/mL)	Valeur escomptée (U/mL)	Récupération (%)
326	327	99
152	152	100
91	94	97
64	65	99

IVD

Nur für professionellen Gebrauch!

Verwendungszweck

In-vitro -Test zur quantitativen Bestimmung des CA 125™-Antigens (durch OC 125 definiertes Antigen) in Serum sowie in EDTA- und Heparinplasma während der Nachsorge bei Patienten mit primärem invasivem Ovarialkarzinom.

Zusammenfassung und Erläuterung des Tests

Die beiden durch die monoklonalen Antikörper OC125(1) und M11(5) definierten Antigen determinanten werden bei einer heterogenen Gruppe von makromolekularen Glykoproteinen (Molekulargewicht 200.000-1.000.000) gefunden.

Diese Glykoproteine können außer in einigen fetalen Geweben (Amnion, Periderm, Derivative des Zölomepithels) sowie in dem Epithel von Eileitern, Endometrium, apokrinen Schweißdrüsen, Brustdrüsen und Endozervix in den meisten nicht muzinösen epithelialen Ovarialkarzinomen nachgewiesen werden.

Erhöhte CA 125II-Testwerte werden im Serum der meisten Patienten mit einem aktiven Ovarialkarzinom in den frühen Stadien der Krankheit gefunden (4,6).

Der diagnostische Wert der CA 125II-Bestimmung liegt in der Überwachung von Therapie und Verlauf bei Patienten mit Ovarialkarzinom (9).

Verfahrensprinzipien

Immunoradiometrischer Assay auf der Grundlage des "Sandwich-Prinzips". Der monoklonale Antikörper M11 mit hoher Affinität und der monoklonale Antikörper OC 125 werden für die Beschichtung der Festphase (beschichtetes Röhrchen) und für den Tracer verwendet.

Einstufiges Verfahren

Beschichtungsantikörper und Tracer-Antikörper reagieren in einem einzigen Reaktionsschritt mit dem in den Kalibratoren bzw. Patientenproben vorhandenen CA 125 . Ungebundenes Material wird durch einen Spülschritt entfernt. Nach dem Ausspülen des überschüssigen Tracers wird die an die Röhrchenwand gebundene Radioaktivität in einem Gammazintillationszähler gemessen.

Zweistufiges Verfahren

Während der ersten Inkubation wird das in den Patientenproben und Kalibratoren vorhandene CA 125 durch den an der Wand des Teströhrchens immobilisierten Antikörper gebunden. Ungebundenes Material wird durch einen Spülschritt entfernt. Während der zweiten Inkubation reagiert der Tracer-Antikörper mit dem bereits gebundenen CA 125.

Nachdem der überschüssige Tracer durch einen zweiten Spülschritt entfernt wurde, wird die an die Röhrchenwand gebundene Radioaktivität in einem Gammazintillationszähler gemessen.

CA125™ ist ein Warenzeichen von Fujirebio Diagnostics Inc.

INHALT Im Lieferumfang enthaltenes Material

Bestimmungen	50
¹²⁵ I-anti-CA 125, monoklonal (Maus), rot Gehalt an Radioaktivität (kBq/μCi)	11 mL < 185 /5
6 Kalibratoren A-F (1,0 mL) in humanem Serumalbumin	1 Satz
Testpuffer, blau	22 mL
Diluent (0 U/mL) in humanem Serumalbumin	6 mL
Teströhrchen, beschichtet mit anti-CA 125, monoklonal (Maus)	50
Kontrolle, human, lyophil	1 mL

Zusätzlich benötigte Materialien

- Mikropipetten (100 μL, 200 μL, 300 μL und 1000 μL) mit Einweg-Kunststoffspitzen
- Vortex-Mixer
- Manueller oder automatischer Wäscher mit Aspirationsvorrichtung
- Horizontaler Schüttler
- Gammazintillationszähler
- Alternativ ein geeignetes automatisiertes Analysatorsystem (falls verfügbar)
- Unbeschichtete Polystyrol-Röhrchen für die Verdünnung von Seren und Kontrollen
- Destilliertes Wasser

Reagenzien mit Jod-125

Dieses Kit enthält radioaktives Material mit maximal 4,83 μCi (179 kBq) Jod-125. Bei der Lagerung, Handhabung und Entsorgung dieses Materials sind entsprechende Vorsichtsmaßnahmen und gute Laborpraktiken einzuhalten.

Für Ärzte bzw. Institutionen, die im Rahmen einer Generallizenz Radioisotope erhalten, gilt Folgendes:

Dieses radioaktive Material darf nur von Ärzten, veterinärmedizinisch tätigen Tierärzten, klinischen Laboren oder Krankenhäusern und nur für klinische In-vitro-Tests oder In-vitro-Labortests, bei denen das Material oder dessen Strahlung keinen Menschen oder Tieren intern oder extern verabreicht wird, empfangen, erworben, besessen und verwendet werden. Entgegennahme, Erwerb, Besitz, Verwendung und Weitergabe des Materials unterliegen den Vorschriften und der Generallizenz der US. Nuclear Regulatory Commission bzw. des Staates, mit dem diese Behörde ein Abkommen zur Ausübung ihrer Überwachungsfunktion abgeschlossen hat.

1. Die Lagerung des radioaktiven Materials ist auf einen speziell dafür bestimmten Bereich zu beschränken.
2. Der Zugang zu radioaktivem Material ist nur befugten Personen zu gestatten.
3. Radioaktives Material nicht mit dem Mund pipettieren.
4. Im vorgesehenen radioaktiven Arbeitsbereich nicht essen oder trinken.
5. Verschüttetes Material aufwischen und den Bereich anschließend mit alkalischem Reinigungsmittel oder radiologischer Dekontaminationslösung wischen. Alle benutzten Glasbehälter gründlichst mit Wasser spülen, bevor sie zusammen mit anderen Laborbehältern aus Glas ausgewaschen werden.

Für Ärzte oder Einrichtungen, die im Rahmen einer Sondergenehmigung Radioisotope erhalten, gilt Folgendes:

Entgegennahme, Gebrauch, Weitergabe und Entsorgung radioaktiven Materials unterliegen den Vorschriften und Bedingungen der jeweiligen Sondergenehmigung.

VORSICHT: Dieses Produkt enthält eine Chemikalie, die nach Angaben des US-Bundesstaates Kalifornien krebserregend ist.

WICHTIGER HINWEIS: Die auf der Packungsbeilage angegebene Radioaktivität kann von der auf dem Etikett des Kartons und des Tracer-Fläschchens angegebenen etwas abweichen. Sowohl das Etikett des Kartons als auch das Etikett des Tracer-Fläschchens geben den tatsächlichen Wert der Radioaktivität am Kalibrationsdatum an, während die Packungsbeilage die theoretische Radioaktivität des Kits angibt.

Reagenzien mit Natriumazid

ACHTUNG: Einige Reagenzien in diesem Kit enthalten Natriumazid, das ggf. mit Blei- oder Kupferleitungen reagieren und höchst explosive Metallazide bilden kann. Zur Entsorgung mit reichlich Wasser nachspülen, um Azidbildung zu vermeiden. Weitere Informationen finden Sie im Abschnitt "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts" des Handbuchs Safety Management Nr. CDC-22, herausgegeben vom Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, 1976.

Vorbereitung der Reagenzien

Die Testkomponenten vor dem Testen auf Raumtemperatur (18–25°C) bringen und gründlich mischen. (**Schaumbildung vermeiden.**)

Die Kontrolle vorsichtig öffnen und mit 1,0 mL destilliertem Wasser rekonstituieren. (**Schaumbildung vermeiden.**) Sicherstellen, dass das am Deckel haftende lyophilisierte Material ebenfalls gelöst wird.

Lagerung der Reagenzien

Rekonstituierte Kontrolle: 1 Woche bei 2–8°C oder 4 Wochen bei –20°C.

Alle anderen Reagenzien bei 2–8°C lagern und vor dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatum verwenden.

- **Reagenzien aufrecht lagern**

- **Reagenzien aus direktem Licht fernhalten**

Probengewinnung, -material und -lagerung

- Proben mit Hilfe von Standardverfahren gewinnen

- Probenmaterial: Serum, EDTA- und Heparinplasma

- Lagerung bei 2–8°C: 24 Stunden

- Zur längeren Lagerung die Proben bei –20°C einfrieren

- Einmaliges Einfrieren und Auftauen der Proben hat keine Auswirkungen auf die Testergebnisse

- Gelagerte Proben müssen vor dem Gebrauch gründlich gemischt werden (Vortex-Mixer)

- Keine agglutinierten, lipämischen, hämolytischen, ikterischen oder kontaminierten Seren verwenden

Störende Substanzen

Bei Bilirubin-Konzentrationen von < 0,125 mg/mL, Hämoglobin-Konzentrationen von < 500 mg/dL bzw. Triglycerid-Konzentrationen von < 12,5 mg/mL wurde keine Beeinträchtigung der Testergebnisse beobachtet.

Anmerkungen zum Verfahren

- Die einzelnen Komponenten des Kits sind sorgfältig aufeinander abgestimmt. Wenn Komponenten aus verschiedenen Chargen ausgetauscht oder vermischt werden, garantiert der Hersteller keine zuverlässigen Ergebnisse.
- Die Reihenfolge der Pipettierschritte strikt einhalten
- Die Messzeit auf mindestens 1 Minute einstellen
- Die Qualitätskontrollrichtlinien für medizinische Labors einhalten
- Mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden

Testverfahren

Es wird empfohlen, Kalibratoren und Proben in doppelter Ausfertigung zu verwenden.

Wenn Werte oberhalb des höchsten Kalibrators erwartet werden, müssen die Proben weiter mit dem Diluent verdünnt werden (z. B. mit den Verdünnungsfaktoren 10, 100 und 1000).

Als Alternative zur manuellen Durchführung und Auswertung kann auf Verantwortung des Labors auch ein geeignetes automatisiertes Analysatorsystem verwendet werden.

Einstufiges Verfahren

1. 100 µL Kalibrator, Kontrolle bzw. Patientenprobe auf den Boden eines beschichteten Teströhrchens pipettieren.
2. 200 µL ¹²⁵I-anti-CA 125 hinzugeben und mischen (Vortex-Mixer). Das Reagens nicht mit dem Testpuffer (blau) verwechseln.
3. Die Röhrchen 3 Stunden (± 5 Min.) lang bei Raumtemperatur (18–25°C) auf einem horizontalen Schüttler inkubieren.*
4. Die Flüssigkeit aspirieren.
5. Alle Röhrchen dreimal mit 2 mL destilliertem Wasser spülen.
6. Die Radioaktivität (CPM) in allen Röhrchen messen (mindestens 1 Min.).

100 µL	Kalibrator, Kontrolle bzw. Patientenprobe auf den Boden eines Teströhrchens pipettieren
200 µL	¹²⁵ I-anti-CA 125 hinzufügen. Das Reagens nicht mit dem Testpuffer (blau) verwechseln! Mischen
3 Std. (± 5 Min.)	Bei Raumtemperatur (18–25°C) auf einem Schüttler inkubieren* Aspirieren
3 x 2 mL	Mit destilliertem Wasser spülen
1 Min.	Messen (Gammazintillationszähler)

* Die Schüttelbedingungen konstant halten!

Optimum:

Amplitude 20 mm = 150 rpm

Amplitude 10 mm = 220 rpm

Amplitude < 8 mm = 300 rpm

Zweistufiges Verfahren

Alternativ zu dem einstufigen Protokoll kann der Test auch gemäß einem zweistufigen Protokoll durchgeführt werden.

1. Jeweils 100 µL Kalibrator, Kontrolle bzw. Patientenprobe auf den Boden eines beschichteten Teströhrchens pipettieren.
2. 200 µL Testpuffer (blau) hinzugeben und mischen (Vortex-Mixer).
3. Die Röhrchen 3 Stunden (± 5 Min.) lang bei Raumtemperatur (18–25°C) auf einem horizontalen Schüttler inkubieren.*
4. Die Flüssigkeit aspirieren.
5. Alle Röhrchen dreimal mit 2 mL destilliertem Wasser spülen.
6. 100 µL Testpuffer hinzugeben.**
7. 200 µL ¹²⁵I-anti-CA 125 hinzugeben und mischen (Vortex-Mixer).**
8. Alle Röhrchen 20-24 Stunden bei Raumtemperatur (18–25°C) stehen lassen.
9. Die Flüssigkeit aspirieren.
10. Alle Röhrchen dreimal mit 2 mL destilliertem Wasser spülen.
11. Die Radioaktivität (CPM) in allen Röhrchen messen (mindestens 1 Min.).

100 µL	Kalibrator, Kontrolle bzw. Patientenprobe auf den Boden eines Teströhrchens pipettieren
200 µL	Testpuffer (blau) hinzugeben
3 Stunden (± 5 Min.)	Bei Raumtemperatur (18–25°C) auf einem Schüttler inkubieren* Aspirieren
3 x 2 mL	Mit destilliertem Wasser spülen
100 µL	Testpuffer (blau) hinzugeben**
200 µL	¹²⁵ I-anti-CA 125 hinzugeben**
20-24 Stunden	Bei Raumtemperatur (18–25°C) inkubieren Aspirieren
3 x 2 mL	Mit destilliertem Wasser spülen
1 min	Messen (Gammazintillationszähler)

* Die Schüttelbedingungen konstant halten!

Optimal:

Amplitude 20 mm = 150 rpm

Amplitude 10 mm = 220 rpm

Amplitude < 8 mm = 300 rpm

** Der Testpuffer und die ¹²⁵I-anti-CA 125-Lösung können auch vermengt werden (1+2, nur in Glasbehältern). In diesem Fall können 300 µL dieser Lösung pipettiert werden.

Ergebnisberechnung

Die Eichkurve kann folgendermaßen manuell erstellt werden:

1. Den mittleren CPM-Wert für jedes Röhrchenpaar bestimmen (Doppelbestimmung).
2. Den mittleren CPM-Wert der einzelnen Kalibratoren (B) durch den mittleren CPM-Wert des höchsten Kalibrators (B_{max}) dividieren und mit dem Faktor 100 multiplizieren, um den Prozentsatz der relativen Bindung ($\%B/B_{max}$) für die einzelnen Kalibratoren zu erhalten.
3. Auf halblogarithmischem Papier die relativen Bindungen der einzelnen Kalibratoren ($\%B/B_{max}$) auf der Y-Achse gegen die entsprechenden Konzentrationen (U/mL) auf der X-Achse auftragen.
4. Die Probenkonzentrationen (U/mL) können in der Eichkurve direkt aus der entsprechenden relativen Bindung ($\%B/B_{max}$) abgelesen werden.

Wenn die gemessene Radioaktivität über der Radioaktivität des höchsten Kalibrators liegt, müssen die Proben mit dem Diluent verdünnt und erneut getestet werden. Bei den verdünnten Proben müssen die tatsächliche Serumkonzentration und der entsprechende Verdünnungsfaktor festgelegt werden.

Die instrumentelle Berechnung von radioimmunologisch gemessenen Werten wird mit Hilfe einer Spline-Approximation durchgeführt.

Qualitätskontrolle

Die Qualitätskontrollrichtlinien für medizinische Labors müssen eingehalten werden.

Die Gültigkeit und Präzision der Ergebnisse sollte mit vom Labor erstellten Kontroll- oder Poolseren kontrolliert werden.

Die in dem Kit enthaltene Kontrolle ist gut für die laborinterne Qualitätskontrolle geeignet. Diese Kontrolle sollte gleichzeitig mit jedem Testdurchgang getestet und wie Patientenproben behandelt werden. Der Konzentrationsbereich jeder Kontrolle ist auf dem Analysenzertifikat angegeben; er gibt die Grenzen an, die von DiaSorin für Kontrollwerte festgelegt wurden, die in zuverlässigen Testdurchgängen erhalten werden können.

Interpretation der Ergebnisse

Die Auswertungen von 372 Versuchspersonen haben den in der Literatur (12) angegebenen Referenzbereich von 35 U/mL für offensichtlich gesunde Versuchspersonen (n=25) bestätigt.

In Abhängigkeit von Alter (2) und Menstruationszyklus (11) wurden jedoch Abweichungen von diesen Konzentrationen festgestellt.

Da CA 125-Werte je nach dem angewendeten Laborverfahren unterschiedlich sein können, sollte jedes Labor seinen eigenen Referenzbereich festlegen.

Grenzen des Verfahrens

Patienten mit Karzinomen weisen möglicherweise CA 125II-Testwerte unterhalb des kritischen Werts auf.

Erhöhte Werte werden möglicherweise bei Patienten mit gutartigen Erkrankungen wie Perikarditis, schweren Lebererkrankungen, schwerer Endometriose und Ovarialzysten oder bei Uterus-, Pankreas-, Leber- oder Lungenkarzinomen beobachtet (3,8,10). Während einer Schwangerschaft können die CA 125II-Testwerte ebenfalls über den kritischen Wert ansteigen (7).

Die CA 125II-Konzentrationen allein können daher nicht als Nachweis für Vorhandensein oder Ausschluss von bösartigen Erkrankungen verwendet werden und sollten nur in Verbindung mit dem klinischen Bild und anderen diagnostischen Verfahren interpretiert werden.

HAMA

Patientenproben mit humanen Anti-Maus-Antikörpern (HAMA) können im Prinzip zu fälschlich erhöhten oder verringerten Werten führen. Obwohl dem Test HAMA-neutralisierende Agenzien hinzugefügt werden, kann die Beeinflussung der Ergebnisse nicht vollständig ausgeschlossen werden. Diese Proben sollten nicht für den CA 125 II IRMA -Assay verwendet werden.

Analysedaten

Kalibrierung

Der CA 125II IRMA -Assay wurde anhand des CA 125II-Assays von Fujirebio kalibriert.

Messbereich

Der Messbereich beträgt 1-500 U/mL.

High-dose-hook-Effekt

Beim einstufigen Verfahren wurde für Konzentrationen von bis zu 50.000 U/mL kein High-dose-hook-Effekt beobachtet, während beim zweistufigen Verfahren für Konzentrationen von bis zu 100.000 U/mL kein High-dose-hook-Effekt festgestellt wurde.

Genauigkeit

Intra-Testvarianz			Inter-Testvarianz		
Mittelwert (U/mL)	VK (%)	n=	Mittelwert (U/mL)	VK (%)	n=
42	4,0	9	44	4,8	13
97	4,1	9	98	7,7	10
339	5,5	9	309	6,1	5

Analytische Sensitivität

Die untere Nachweisgrenze beträgt < 1,0 U CA 125/mL. Diese Nachweisgrenze ist als ein Wert definiert, der den Nullstandard um drei Standardabweichungen überschreitet; dies ist die niedrigste CA 125II-Konzentration, die mit statistischer Bedeutung von Null unterschieden werden kann.

Spezifität

Beeinträchtigungen durch Arzneimittel

Es wurden keine Kreuzreaktivitäten mit Zyklophosphamid, Doxorubicin, Fluorouracil, Methotrexat und Tamoxifen in therapeutischen Bereichen festgestellt.

Verdünnungslinearität

Ein Patientenserum wurde mit Diluent verdünnt und anschließend gemessen. Die gemessenen Werte wurden mit Erwartungswerten verglichen, die aus einer linearen Regression erhalten wurden.

Ursprüngliche Konzentration: 298,3 U/mL

Verdünnung	Messwert (U/mL)	Erwartungswert (U/mL)	Wiederfindung (%)
1 : 1,25	223	219	102
1 : 2,5	114	112	101
1 : 5	64	59	108
1 : 10	31	33	95

Wiederfindung

Ein Patientenserum mit geringem CA 125-Gehalt wurde mit verschiedenen Mengen von CA 125 versetzt.

Ursprüngliche Konzentration: 35,2 U/mL

Messwert (U/mL)	Erwartungswert (U/mL)	Wiederfindung (%)
326	327	99
152	152	100
91	94	97
64	65	99

IVD

Sólo para uso profesional

Indicaciones

Prueba *in vitro* para la determinación cuantitativa de la actividad del antígeno CA 125™ (antígeno definido OC 125) en suero, así como en plasma EDTA y en plasma de heparina durante el seguimiento de pacientes con carcinoma ovárico invasivo primario.

Resumen y explicación del ensayo

Se han encontrado los dos antígenos determinantes definidos por los anticuerpos monoclonales OC125(1) y M11(5) en un grupo heterogéneo de glicoproteínas macromoleculares (peso molecular 200.000 – 1.000.000).

Estas glicoproteínas se pueden detectar en la mayoría de los carcinomas ováricos epiteliales no mucinosos junto con algunos tejidos fetales (amnión, peridermis, derivados del epitelio celómico) y en el epitelio de los tubos de falopio, endometrio, glándulas sudoríparas apocrinas, glándulas mamarias y endocérvix.

Se han encontrado valores de ensayo elevados de CA 125II en el suero de muchas pacientes con carcinoma ovárico activo en los estadios tempranos de la enfermedad (4, 6).

El valor diagnóstico de la determinación de CA 125II reside en la monitorización de la terapia y progresión de las pacientes con carcinoma ovárico (9).

Principios del procedimiento

Ensayo inmunoradiométrico basado en el "principio de sandwich". Para el recubrimiento de la fase sólida (tubo recubierto) y para el trazador, se han utilizado el anticuerpo monoclonal M11 de alta afinidad y el anticuerpo monoclonal OC 125.

Método de un paso

Los anticuerpos del recubrimiento y los anticuerpos del trazador reaccionan con el CA 125 presente en los calibradores o las muestras de pacientes en una reacción de un paso. El material no unido se retira mediante un paso de lavado. Tras lavar el trazador de exceso la radiactividad unida a la pared del tubo se mide en un contador de centelleo de rayos gamma.

Método de dos pasos

Durante la primera incubación, el CA 125 presente en las muestras de pacientes y en los calibradores queda unido por el anticuerpo inmovilizado en la pared del tubo de ensayo. El material no unido se retira mediante un paso de lavado. Durante la segunda incubación, el anticuerpo del trazador reacciona con el CA 125 que ya está unido.

Tras retirar el trazador de exceso la radiactividad unida a la pared del tubo se mide en un contador de centelleo de rayos gamma.

CA125™ es marca comercial de Fujirebio Diagnostics Inc.

CONTENIDO Material suministrado

Determinaciones	50
¹²⁵ I-anti-CA 125, monoclonal (ratón), rojo contenido radiactivo (kBq / μ Ci)	11 mL < 185 /5
6 calibradores A-F (1,0 mL) en albúmina de suero humano	1 juego
Tampón de ensayo, azul	22 mL
Diluyente (0 U/mL) en albúmina de suero humano	6 mL
Tubos de ensayo, recubiertos de anti-CA 125, monoclonal (ratón)	50
Control, humano, liofilico	1 mL

Material necesario pero no suministrado

- Micropipetas (100 μ L, 200 μ L, 300 μ L, 1000 μ L) con punta de plástico desechable
- Mezclador vórtex.
- Lavador automático o manual con dispositivo de aspiración
- Agitador horizontal
- Contador de centelleo de rayos gamma
- Alternativamente, un sistema analizador automático, si está disponible
- Tubos de poliestireno no recubiertos para la dilución de los sueros y controles
- Agua purificada

Reactivos con contenido de yodo 125

Este equipo contiene material radiactivo que no excede de 4,83 μ Ci (179 kBq) de yodo 125. Para almacenar, manejar y desechar este material, deben adoptarse las precauciones necesarias y las prácticas de laboratorio correctas.

Para facultativos o instituciones que reciben radioisótopos con licencia genérica:

Este material radiactivo sólo deben recibirlo, adquirirlo, poseerlo y utilizarlo médicos, veterinarios que practiquen la medicina veterinaria, laboratorios clínicos u hospitales, y sólo para pruebas in vitro clínicas o de laboratorio que no conlleven la administración interna o externa del material ni su radiación a seres humanos ni animales. Su recepción, adquisición, posesión, uso y transferencia se rigen por la normativa y la licencia genérica de la Comisión Reguladora Nuclear del estado en el que la Comisión haya llegado a un acuerdo para el ejercicio de su autoridad reguladora.

1. El almacenamiento del material radiactivo debe limitarse a un área destinada específicamente a tal efecto.
2. El acceso a materiales radiactivos debe estar limitado únicamente al personal autorizado.
3. No recoja material radiactivo con la pipeta usando la boca.
4. No coma ni beba dentro de las áreas destinadas a trabajos radiactivos.
5. Las áreas donde se produzcan derrames deben limpiarse y después lavarse con un detergente alcalino o una solución descontaminante radiológica. Todo recipiente de vidrio utilizado debe enjuagarse completamente con agua antes de lavarse con otros recipientes de laboratorio.

Para facultativos o instituciones que reciben radioisótopos con licencia específica:

La recepción, uso, transferencia y eliminación de los materiales radiactivos se rigen por la normativa y las condiciones de la licencia en cuestión.

ADVERTENCIA: este producto contiene una sustancia química conocida por el Estado de California como causante de cáncer.

ATENCIÓN: la radiactividad impresa en el interior del paquete puede diferir ligeramente de la impresa en la etiqueta de la caja y en la del vial del trazador. La etiqueta de la caja y la del trazador indican la cantidad real de radiactividad en la fecha de la calibración, mientras que el prospecto del paquete indica la radiactividad teórica del equipo.

Reactivos con contenido de azida sódica

PRECAUCIÓN: algunos reactivos de este equipo contienen azida sódica. La azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre y formar azidas metálicas altamente explosivas. Antes de desecharlos, enjuáguelos con abundante agua para impedir la acumulación de azidas. Para obtener más información, consulte "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts" en Manual Guide-Safety Management nº CDC-22, publicado por Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976.

Preparación de los reactivos

Deje que los componentes del ensayo alcancen la temperatura ambiente (18–25°C) antes de utilizarlos y mézclelos bien. **(No permita que se forme espuma).**

Abra cuidadosamente cada control y reconstitúyalo con 1,0 mL de agua purificada. **(No permita que se forme espuma).** Asegúrese de que se disuelve también el material liofilizado adherido al tapón.

Almacenamiento de los reactivos

Control reconstituido: 1 semana a 2–8°C o 4 semanas a –20°C.

Almacene todos los demás reactivos a 2–8°C. Utilice los reactivos antes de la fecha de caducidad impresa en el paquete.

- **Almacene los reactivos en posición vertical.**

- **Manténgalos alejados de la luz directa.**

Recogida de muestras, material y almacenamiento

- Las muestras deben recogerse mediante los procedimientos estándar.

- Material de muestra: suero, EDTA y plasma heparina

- Almacenamiento a 2–8°C: 24 horas

- Para periodos de almacenamiento más prolongados, congele las muestras a –20°C

- La aplicación de un ciclo de congelación-descongelación a las muestras no afecta al resultado de las pruebas.

- Las muestras almacenadas deben mezclarse cuidadosamente antes de su uso (en un mezclador vórtex).

- Evite el uso de sueros aglutinados, lipémicos, hemolíticos, ictericos o contaminados.

Sustancias interferentes

No se han observado interferencias en los resultados de las pruebas con concentraciones de < 0,125 mg/mL de bilirrubina, < 500 mg/dL de hemoglobina o < 12,5 mg/mL de triglicéridos.

Notas al procedimiento

- Cada componente del kit de ensayo ha sido elegido cuidadosamente para verificar la coincidencia con los demás. El fabricante no garantiza la fiabilidad de los resultados si se intercambia o se mezcla un componente cualquiera con otro de un lote distinto.
- Siga rigurosamente la secuencia de pasos para la dosificación con pipeta.
- Defina el tiempo de medición a un (1) minuto como mínimo.
- Siga rigurosamente las directrices de control de calidad de los laboratorios médicos.
- Evite la contaminación microbiana de los reactivos.

Procedimiento del ensayo

Se recomienda realizar series de ensayos duplicadas de los calibradores y muestras.

Si se esperan valores por encima de los valores más altos del calibrador, es aconsejable diluir más las muestras con el diluyente (por ejemplo, con factores de dilución 10, 100, 1000). Como método alternativo para la obtención manual del resultado y su evaluación, se puede utilizar también un sistema de analizador automático apropiado bajo la responsabilidad del laboratorio.

Método de un paso

1. Dosifique con pipeta 100 µL de calibrador, control o muestra de paciente en el fondo de un tubo de ensayo recubierto.
2. Agregue 200 µL de ¹²⁵I-anti-CA 125, y mezcle (en un mezclador vórtex). No lo confunda con el tampón de ensayo (azul).
3. Incube los tubos durante 3 horas (± 5 min) a temperatura ambiente (18–25°C) en un agitador horizontal.*
4. Aspire el líquido.
5. Lave todos los tubos 3 veces con 2 mL de agua purificada.
6. Mida la radiactividad (CPM) de todos los tubos (durante 1 minuto como mínimo).

100 µL	Dosifique con pipeta el calibrador, control o muestra de paciente en el fondo de un tubo de ensayo
200 µL	Agregue ¹²⁵ I-anti-CA 125 ¡No lo confunda con el tampón de ensayo (azul)! Mezcle
3 horas (± 5 min)	Incube a temperatura ambiente (18–25°C) en un agitador* Aspire
3 x 2 mL	Lave con agua purificada
1 min	Mida (con un contador de centelleo de rayos gamma)

* ¡Mantenga constantes las condiciones de agitación!

Valores óptimos:

Amplitud 20 mm = 150 rpm

Amplitud 10 mm = 220 rpm

Amplitud < 8 mm = 300 rpm

Método de dos pasos

Alternativamente al protocolo de un paso, el ensayo puede realizarse también siguiendo un protocolo de dos pasos.

1. Dosifique con pipeta 100 µL de cada calibrador, control o muestra de paciente en el fondo de un tubo de ensayo recubierto.
2. Agregue 200 µL de tampón de ensayo (azul), y mezcle (en un mezclador vórtex).
3. Incube los tubos durante 3 horas (± 5 min) a temperatura ambiente (18–25°C) en un agitador horizontal.*
4. Aspire el líquido.
5. Lave todos los tubos 3 veces con 2 mL de agua purificada.
6. Agregue 100 µL de tampón de ensayo.**
7. Agregue 200 µL de ¹²⁵I-anti-CA 125 , y mezcle (en un mezclador vórtex)**
8. Deje todos los tubos durante 20 – 24 horas a temperatura ambiente (18–25°C).
9. Aspire el líquido.
10. Lave todos los tubos 3 veces con 2 mL de agua purificada.
11. Mida la radiactividad (CPM) de todos los tubos (durante 1 minuto como mínimo).

100 µL	Dosifique con pipeta el calibrador, control o muestra de paciente en el fondo de un tubo de ensayo
200 µL	Agregue el tampón de ensayo (azul)
3 horas (± 5 min)	Incube a temperatura ambiente (18–25°C) en un agitador* Aspire
3 x 2 mL	Lave con agua purificada
100 µL	Agregue el tampón de ensayo (azul)**
200 µL	Agregue ¹²⁵ I-anti-CA 125 **
20 - 24 horas	Incube a temperatura ambiente (18–25°C) Aspire
3 x 2 mL	Lave con agua purificada
1 min	Mida (con un contador de centelleo de rayos gamma)

* ¡Mantenga constantes las condiciones de agitación!

Valores óptimos:

Amplitud 20 mm = 150 rpm

Amplitud 10 mm = 220 rpm

Amplitud < 8 mm = 300 rpm

** También se puede crear un pool con una solución de tampón de ensayo y ¹²⁵I-anti-CA 125 (1+2, sólo en recipientes de cristal), y dosificar a continuación 300 µL de esta solución.

Cálculo de resultados

La curva de calibración se puede establecer manualmente con el procedimiento descrito a continuación:

1. Determine la media de CPM de cada par de tubos (determinación doble).
2. Divida la media de CPM de cada calibrador (B) por la media de CPM del calibrador más alto ($B_{m\acute{a}x}$) y multiplique por 100 para obtener el porcentaje de unión relativa ($\% B/B_{m\acute{a}x}$) de cada calibrador.
3. En un papel milimetrado semilogarítmico, trace las uniones relativas de cada calibrador ($\% B/B_{m\acute{a}x}$) en el eje Y frente a las concentraciones correspondientes (U/mL) en el eje X.
4. Las concentraciones de las muestras (U/mL) se pueden leer directamente en la curva de calibración a partir de sus uniones relativas correspondientes ($\% B/B_{m\acute{a}x}$).

Si la reactividad medida es superior a la del calibrador más alto, la muestras deberán diluirse con el diluyente y ser sometidas a ensayo de nuevo. Con las muestras diluidas deberá establecerse de nuevo la concentración de suero y el factor de dilución apropiado.

Para el cálculo instrumental de los valores radioinmunológicos medidos se ha utilizado una aproximación spline.

Control de calidad

Siga las directrices de control de calidad de los laboratorios médicos.

Se deberá comprobar la validez y la precisión de los resultados mediante sueros de control o pool de sueros preparados por el laboratorio.

El control incluido en este equipo resulta muy adecuado para realizar el control de calidad interno de cada laboratorio. El control debe comprobarse simultáneamente con cada serie de ensayos y tratarse como las muestras de paciente. El rango de concentraciones de cada control aparece en el certificado de análisis, e indica los límites definidos por DiaSorin para los valores de control que se pueden obtener a partir de ensayos fiables.

Interpretación de los resultados

Las evaluaciones realizadas sobre 372 sujetos han confirmado el rango de referencia de 35 U/mL para los sujetos evidentemente sanos ($n = 25$) indicados en la literatura (12).

Sin embargo, se han encontrado variaciones de estas concentraciones que dependen de la edad (2) y del ciclo menstrual (11).

Dado que los valores de CA 125 pueden variar en función del método de laboratorio utilizado, cada laboratorio debe establecer su propio rango de referencia.

Limitaciones del procedimiento

Los pacientes con carcinomas pueden mostrar valores de ensayo de CA 125II por debajo del punto de corte.

Se pueden observar valores elevados en pacientes con dolencias benignas como pericarditis, trastornos graves de hígado, endometriosis grave, quistes ováricos o con carcinoma de útero, páncreas, hígado o pulmón (3, 8, 10). En pacientes gestantes, los valores de ensayo de CA 125II pueden aumentar también por encima del punto de corte (7).

Por lo tanto, los valores de CA 125II por sí solos no pueden utilizarse como una prueba de la presencia o exclusión de una dolencia maligna, y deberán interpretarse junto con la imagen clínica y otros procedimientos de diagnóstico.

HAMA

Las muestras de paciente que contengan anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA) pueden, en principio, conducir a valores erróneamente elevados o reducidos. El ensayo lleva añadidos activos neutralizantes de HAMA. No obstante, no es posible descartar completamente la influencia en los resultados. Estas muestras no deben utilizarse con el CA 125 II IRMA.

Datos analíticos

Calibración

Para calibrar el CA 125II IRMA se ha utilizado el método de ensayo para CA 125II de Fujirebio.

Rango de medición

El rango de medición es de 1 - 500 U/mL.

Efecto de gancho a concentraciones altas

Con el método de un paso no se ha observado efecto de gancho para concentraciones de hasta 50.000 U/mL; con el método de dos pasos no se observó efecto de gancho para concentraciones de hasta 100.000 U/mL .

Precisión

Variación intra - ensayo			Variación inter - ensayo		
Valor de la media (U/mL)	CV (%)	n=	Valor de la media (U/mL)	CV (%)	n=
42	4,0	9	44	4,8	13
97	4,1	9	98	7,7	10
339	5,5	9	309	6,1	5

Sensibilidad analítica

El límite de detección más bajo es de < 1,0 U CA 125/mL . El límite de detección se ha definido como un valor que supera el estándar cero para tres desviaciones estándar; se trata de la concentración de CA 125II más baja que puede distinguirse de cero con importancia estadística.

Especificidad

Interferencias con fármacos

No se han encontrado interferencias cruzadas con ciclofosfamida, doxorubicina, fluoruracil, metotrexato y tamixofén dentro de los rangos terapéuticos.

Linealidad sobre dilución

El suero de paciente se diluyó con diluyente y se midió a continuación. Los valores medidos se compararon con los valores previstos obtenidos de la regresión lineal.

Concentración original: 298,3 U/mL

Dilución	Valor medido (U/mL)	Valor previsto (U/mL)	Recuperación (%)
1 : 1,25	223	219	102
1 : 2,5	114	112	101
1 : 5	64	59	108
1 : 10	31	33	95

Recuperación

El suero de paciente con bajo contenido de CA 125 se inyectó con distintas cantidades de CA 125.

Concentración original: 35,2 U/mL

Valor medido (U/mL)	Valor previsto (U/mL)	Recuperación (%)
326	327	99
152	152	100
91	94	97
64	65	99

IVD **Esclusivamente per uso professionale!**

Uso previsto

Test *in vitro* per la determinazione quantitativa dell'antigene CA 125™ (antigene OC 125 definito) nel siero e nel plasma (EDTA o eparina) per controlli clinici di routine di pazienti affette da carcinoma primario alle ovaie di tipo invasivo.

Sommario e spiegazione del test

I due determinanti antigenici definiti dagli anticorpi monoclonali OC125(1) e M11(5) sono presenti su un gruppo eterogeneo di glicoproteine macromolecolari (peso molecolare 200.000-1.000.000).

Tali glicoproteine possono essere individuate nella maggior parte dei carcinomi alle ovaie epiteliali non mucinosi, ed inoltre in alcuni tessuti fetali (amnios, periderma, derivati dell'epitelio celomatico) e nell'epitelio delle tube di Fallopio, nell'endometrio, nelle ghiandole sudoripare apocrine, nelle ghiandole mammarie e nell'endocervice.

Valori elevati di CA 125II sono presenti nel siero della maggior parte di pazienti con carcinoma attivo alle ovaie nelle fasi iniziali della malattia (4,6).

Il valore diagnostico della determinazione di CA 125II serve per il monitoraggio della terapia e della progressione della malattia in pazienti affette da carcinoma alle ovaie (9).

Principi della procedura

Analisi immunoradiometrica basata sul "principio sandwich". L'anticorpo monoclonale M11 ad elevata affinità e l'anticorpo monoclonale OC 125 vengono impiegati per il rivestimento della fase solida (provetta rivestita) e per il tracciante.

Metodo a fase singola

Gli anticorpi di rivestimento e del tracciante reagiscono in un'unica reazione con il CA 125 presente nei calibratori o nei campioni. Il materiale non legato viene rimosso mediante lavaggio. Dopo il lavaggio del tracciante in eccesso, la radioattività che rimane sulle pareti della provetta viene misurata con un contatore ad emissione di scintille gamma.

Metodo a due fasi

Durante la prima incubazione, il CA 125 presente nei campioni e nei calibratori viene fissato dall'anticorpo immobilizzato sulle pareti della provetta. Il materiale non legato viene rimosso mediante lavaggio. Durante la seconda incubazione, l'anticorpo del tracciante reagisce con il CA 125 precedentemente fissato.

Dopo la rimozione del tracciante in eccesso mediante un secondo lavaggio, la radioattività che rimane sulle pareti della provetta viene misurata con un contatore ad emissione di scintille gamma.

CA125™ è un marchio della Fujirebio Diagnostics Inc.

CONTENUTO Materiale fornito

Determinazioni	50
¹²⁵ I-anti-CA 125, monoclonale (topo), rosso contenuto radioattivo (kBq / μ Ci)	11 mL < 185 /5
6 calibratori A-F (1,0 mL) in sieroalbumine umane	1 serie
Buffer per analisi, blu	22 mL
Diluente (0 U/mL) in sieroalbumine umane	6 mL
Provette, rivestite con anti-CA 125, monoclonale (topo)	50
Controlli, umani, liofilati	1 mL

Materiale necessario, non fornito in dotazione

- Micropipette (100 μ L, 200 μ L, 300 μ L, 1000 μ L) con punte in plastica monouso
- Mixer Vortex.
- Dispositivo per il lavaggio manuale o automatico completo di aspiratore
- Agitatore orizzontale
- Contatore ad emissione di scintille gamma
- In alternativa, un adeguato sistema analizzatore automatizzato
- Provette in polistirene non rivestite per la diluizione di sieri e controlli
- Acqua purificata

Reagenti contenenti iodio-125

Questo kit contiene materiale radioattivo che non supera 4,83 μ Ci (179 kBq) di iodio-125. Adottare precauzioni adeguate e le buone pratiche di laboratorio per la conservazione, la manipolazione e lo smaltimento di questo materiale.

Per i professionisti o gli istituti che utilizzano radioisotopi con una licenza generale:

Questo materiale radioattivo può essere consegnato, acquisito, conservato e usato unicamente da personale medico, veterinari abilitati alla pratica di medicina veterinaria, laboratori clinici o ospedali e unicamente per test in vitro clinici o di laboratorio che non prevedano la somministrazione interna o esterna del materiale, o di radiazioni da esso derivanti, su persone o animali. L'acquisto, il possesso, la conservazione, l'uso e il trasferimento sono soggetti alle norme e alla licenza generale della Nuclear Regulatory Commission statunitense o dello stato con cui la Commissione ha stipulato un accordo per l'esercizio dell'autorità normativa.

1. La conservazione del materiale radioattivo deve essere limitata ad un'area specificatamente designata.
2. L'accesso ai materiali radioattivi deve essere limitato esclusivamente al personale autorizzato.
3. Non usare la bocca per versare con la pipetta materiale radioattivo.
4. Non mangiare o bere nelle aree di lavoro designate per materiale radioattivo.
5. Le zone dove possono verificarsi perdite devono essere pulite, quindi lavate con detergente alcalino o soluzione per la decontaminazione radiologica. Tutti gli oggetti in vetro usati devono essere accuratamente risciacquati con acqua prima di lavarli con altri oggetti in vetro del laboratorio.

Per i professionisti o gli istituti che utilizzano radioisotopi con una licenza specifica:

L'acquisto, l'uso, il trasferimento e lo smaltimento di materiali radioattivi sono soggetti alle norme e alle condizioni della licenza specifica.

AVVERTENZA: questo prodotto contiene un prodotto chimico noto nello Stato della California per provocare cancro.

ATTENZIONE: la radioattività riportata sulle istruzioni allegate alla confezione può essere leggermente diversa dalla radioattività riportata sull'etichetta della scatola e sull'etichetta della fiala di tracciante. Le etichette sulla scatola e sulla fiala di tracciante indicano la quantità effettiva di radioattività alla data di calibrazione, mentre il materiale informativo della confezione indica la radioattività teorica del kit.

Reagenti contenenti sodio azide

PRECAUZIONE: alcuni reagenti di questo kit contengono sodio azide. La sodio azide può reagire con componenti in piombo o rame e formare quindi azidi metalliche altamente esplosive. Al momento dello smaltimento, lavare con abbondante acqua al fine di evitare la formazione di azide. Per ulteriori informazioni, consultare "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts," nel manuale Guide-Safety Management No. CDC-22 pubblicato dai Centri per il controllo e la prevenzione delle malattie di Atlanta, GA, 1976.

Preparazione dei reagenti

Lasciare che tutti i componenti raggiungano la temperatura ambiente (18–25°C) prima di eseguire il test e agitare accuratamente (**evitare la formazione di schiuma**).

Aprire con cautela il controllo e ricostituire con 1,0 mL di acqua purificata (**evitare la formazione di schiuma**). Controllare che anche il materiale liofilizzato che aderisce al tappo sia disciolto.

Conservazione dei reagenti

Controllo ricostituito: 1 settimana a 2–8°C o 4 settimane a –20°C.

Conservare tutti gli altri reagenti a 2–8°C. Usare prima della data di scadenza stampata sulla confezione.

- **Conservare in posizione diritta.**
- **Tenere lontano dalla luce diretta.**

Prelievo dei campioni, materiali e conservazione

- Prelevare i campioni secondo le procedure standard.
- Tipo di campione: siero, plasma EDTA ed eparina
- Conservazione a 2–8°C: 24 ore
- Per tempi di conservazione più lunghi, congelare a –20°C
- Il congelamento e lo scongelamento dei campioni una sola volta non influisce sui risultati.
- I campioni che sono stati conservati dovranno essere accuratamente mescolati prima dell'uso (con mixer vortex).
- Non usare sieri agglutinati, lipemici, emolitici, itterici o contaminati.

Sostanze interferenti

Non sono state notate interferenze con i risultati dei test a concentrazioni di bilirubina < 0,125 mg/mL, emoglobina < 500 mg/dL o trigliceridi < 12,5 mg/mL.

Note sulla procedura

- I singoli componenti del kit sono accuratamente abbinati fra loro. Se i componenti vengono scambiati o sostituiti con componenti di lotti diversi, il produttore non garantisce risultati affidabili.
- Attenersi rigorosamente alla sequenza delle operazioni con pipetta.
- Regolare il tempo di misurazione ad almeno 1 minuto.
- Osservare le linee guida per il controllo di qualità previste per i laboratori medici.
- Evitare contaminazioni microbiche dei reagenti.

Procedura

Si consiglia la doppia determinazione dei campioni e dei calibratori.

Se si prevedono letture superiori rispetto al calibratore maggiore, i campioni dovranno essere ulteriormente diluiti con il diluente (ad esempio, a fattori di diluizione 10, 100, 1000).

In alternativa alle performance e alla valutazione manuale, si può utilizzare un adeguato analizzatore automatizzato su responsabilità del laboratorio.

Metodo a fase singola

1. Iniettare con pipetta 100 µL di calibratore, controllo o campione paziente sul fondo di una provetta rivestita.
2. Aggiungere 200 µL ¹²⁵I-anti-CA 125, mescolare (con mixer vortex). Non confondere con il buffer per analisi (blu).
3. Lasciare le provette in incubazione per 3 ore (± 5 min) a temperatura ambiente (18–25°C) su un agitatore orizzontale.*
4. Aspirare il liquido.
5. Lavare tutte le provette tre volte con 2 mL di acqua purificata.
6. Misurare la radioattività (CPM) in tutte le provette (per almeno 1 minuto).

100 µL	Iniettare con pipetta il calibratore, il controllo o il campione paziente sul fondo di una provetta
200 µL	Aggiungere ¹²⁵ I-anti-CA 125 Non confondere con il buffer per analisi (blu)! Mescolare
3 ore (± 5 min)	Lasciare in incubazione a temperatura ambiente (18–25°C) su un agitatore* Aspirare
3 x 2 mL	Lavare con acqua purificata
1 min	Misurare (con contatore ad emissione di scintille gamma)

* Mantenere costanti le condizioni di agitazione!

Ottimale:

Ampiezza 20 mm = 150 rpm

Ampiezza 10 mm = 220 rpm

Ampiezza < 8 mm = 300 rpm

Metodo a due fasi

In alternativa al protocollo a fase singola, si può eseguire il test anche secondo il protocollo a due fasi.

1. Iniettare con pipetta 100 µL di calibratore, controllo o campione paziente sul fondo di una provetta rivestita.
2. Aggiungere 200 µL di buffer per analisi (blu), mescolare (con mixer vortex).
3. Lasciare le provette in incubazione per 3 ore (± 5 min) a temperatura ambiente (18–25°C) su un agitatore orizzontale.*
4. Aspirare il liquido.
5. Lavare tutte le provette tre volte con 2 mL di acqua purificata.
6. Aggiungere 100 µL di buffer per analisi.**
7. Aggiungere 200 µL di ¹²⁵I-anti-CA 125, mescolare (con mixer vortex)**
8. Lasciare tutte le provette in incubazione per 20 - 24 ore a temperatura ambiente (18–25°C).
9. Aspirare il liquido.
10. Lavare tutte le provette tre volte con 2 mL di acqua purificata.
11. Misurare la radioattività (CPM) in tutte le provette (per almeno 1 minuto).

100 µL	Iniettare con pipetta il calibratore, il controllo o il campione paziente sul fondo di una provetta
200 µL	Aggiungere il buffer per analisi (blu)
3 ore (± 5 min)	Lasciare in incubazione a temperatura ambiente (18–25°C) su un agitatore Aspirare
3 x 2 mL	Lavare con acqua purificata
100 µL	Aggiungere il buffer per analisi (blu)**
200 µL	Aggiungere ¹²⁵ I-anti-CA 125**
20-24 ore	Lasciare in incubazione a temperatura ambiente (18–25°C) Aspirare
3 x 2 mL	Lavare con acqua purificata
1 min	Misurare (con contatore ad emissione di scintille gamma)

* Mantenere costanti le condizioni di agitazione!

Ottimale:

Ampiezza 20 mm = 150 rpm

Ampiezza 10 mm = 220 rpm

Ampiezza < 8 mm = 300 rpm

** È possibile combinare il buffer per analisi e la soluzione ¹²⁵I-anti-CA 125 (1+2, solo in contenitori di vetro). 300 µL di questa soluzione possono quindi essere iniettati con pipetta.

Calcolo dei risultati

La curva di calibrazione viene stabilita manualmente come segue:

1. Stabilire il CPM medio per ogni coppia di provette (doppia determinazione).
2. Dividere il CPM medio di ogni calibratore (B) per il CPM medio del calibratore maggiore (B_{max}) e moltiplicare per 100 per ottenere la percentuale del legame relativo ($\%B/B_{max}$) per ogni calibratore.
3. Su carta millimetrata semi-logaritmica, tracciare il legame relativo di ciascun calibratore ($\%B/B_{max}$) sull'asse Y in rapporto alle concentrazioni corrispondenti (U/mL) sull'asse X.
4. Leggere direttamente le concentrazioni dei campioni (U/mL) sulla curva di calibrazione in base al corrispondente legame relativo ($\%B/B_{max}$).

Se la radioattività misurata supera quella del calibratore maggiore, i campioni dovranno essere diluiti con il diluente e analizzati nuovamente. In presenza di campioni diluiti, si dovrà stabilire la concentrazione reale di siero e l'adeguato fattore di diluizione.

Il calcolo strumentale dei valori radioimmunologici viene eseguito mediante approssimazione spline.

Controllo di qualità

Attenersi alle linee guida per il controllo di qualità per i laboratori medici.

La validità e la precisione dei risultati devono essere verificati con sieri di controllo o pool preparati dal laboratorio.

Il controllo fornito con il presente kit è specifico per eseguire in laboratorio il controllo di qualità. Questo controllo dovrà essere testato simultaneamente con ogni serie di analisi e trattato come i campioni dei pazienti. Il range delle concentrazioni di ogni controllo è riportato sul certificato di analisi ed indica i limiti stabiliti da DiaSorin per i valori di controllo ottenibili in sessioni di analisi affidabili.

Interpretazione dei risultati

Le valutazioni di 372 individui hanno confermato il range di riferimento di 35 U/mL per soggetti dichiaratamente sani (n=25) indicato nella letteratura (12).

Sono state tuttavia notate variazioni rispetto a queste concentrazioni in base all'età (2) e al ciclo mestruale (11).

Poiché i valori di CA 125 possono variare in base alle metodiche di laboratorio adottate, ogni laboratorio dovrà stabilire range di riferimento propri.

Limiti della procedura

Pazienti affette da carcinoma possono presentare valori di CA 125II sotto il cut-off.

Valori elevati si possono osservare in pazienti con forme benigne, quali pericardite, malattie epatiche gravi, endometriosi gravi, cisti ovariche o con carcinoma all'utero, al pancreas, al fegato o al polmone (3,8,10). In gravidanza, i valori di CA 125II possono aumentare anche al di sopra del cut-off (7).

Pertanto i soli livelli di CA 125II non possono essere usati quale evidenza di presenza o assenza di una forma tumorale maligna e dovranno essere interpretati esclusivamente unitamente al quadro clinico e ad altre procedure diagnostiche.

HAMA

Campioni di pazienti contenenti anticorpi anti-tipo (HAMA) possono in teoria dare valori erroneamente elevati o bassi. Al test sono aggiunti agenti HAMA neutralizzanti. Non si può tuttavia escludere completamente l'influenza sui risultati. Tali campioni non dovranno essere usati per l'analisi CA 125 II IRMA.

Dati analitici

Calibrazione

Il test CA 125II IRMA è stato calibrato in base al dosaggio CA 125II Fujirebio.

Range di misurazione

Il range di misurazione è compreso fra 1 - 500 U/mL.

Effetto gancio

Con il metodo a fase singola non è stato osservato alcun effetto gancio con concentrazioni fino a 50.000 U/mL, mentre per il metodo a due fasi non è stato osservato alcun effetto gancio per concentrazioni fino a 100.000 U/mL.

Precisione

Variazione intra-analisi			Variazione inter-analisi		
Valore medio (U/mL)	CV (%)	n=	Valore medio (U/mL)	CV (%)	n=
42	4,0	9	44	4,8	13
97	4,1	9	98	7,7	10
339	5,5	9	309	6,1	5

Sensibilità analitica

Il limite minimo di rilevazione è < 1,0 U CA 125/mL. Questo limite di rilevazione è definito come valore superiore allo zero in base a tre deviazioni standard; è la concentrazione minima di CA 125II che si differenzia da zero con significato statistico.

Specificità

Interferenze con i farmaci

Non sono state rilevate reattività crociate con ciclofosfamide, doxorubicina, fluorouracile, metotressato e tamoxifen nei range terapeutici.

Linearità della diluizione

Il siero di un paziente è stato diluito con diluente e quindi misurato. I valori rilevati sono stati confrontati con i valori attesi ottenuti dalla regressione lineare.

Concentrazione originale: 298,3 U/mL

Diluizione	Valore misurato (U/mL)	Valore atteso (U/mL)	Recupero (%)
1 : 1,25	223	219	102
1 : 2,5	114	112	101
1 : 5	64	59	108
1 : 10	31	33	95

Recupero

In un siero con basso contenuto di CA 125 sono state aggiunte quantità diverse di CA 125.
Concentrazione originale: 35,2 U/mL

Valore misurato (U/mL)	Valore atteso (U/mL)	Recupero (%)
326	327	99
152	152	100
91	94	97
64	65	99

IVD

Kizárólag szakmai használatra!

Felhasználói terület

In vitro teszt CA 125TM antigén (OC 125-el meghatározott antigén) kvantitatív meghatározásához szérumból, valamint EDTA-s és heparinos plazmából elsodleges invazív petefészek carcinoma nyomonkövetésére.

A teszt áttekintése és magyarázata

Két antigen determináns található a makromolekuláris glikoproteinek (molekuláris tömeg: 200,000-1,000,000) heterogén csoportjában, OC125(1) és M11(5) monoklonális antigénre.

A glikoproteinek megtalálhatóak a legtöbb nem mucinosus epiteliális petefészek carcinómában, ezenkívül néhány magzati szövetben (amnion periderma, hasuregi epithelium származék) és a petevezeték, az endometrium, apokrin verejték mirigyek, emlőmirigyek, endocervix epitheliumában.

Emelkedett CA 125II assay érték figyelhető meg a legtöbb olyan betegnél aki aktív petefészek carcinoma első szakaszában van (4,6).

A CA 125II meghatározásnak diagnosztikus értéke van a terápia monitorozásában és a progresszió megállapításban petefészek carcinómás betegek esetén (9).

Meghatározás elve

"Szendvics elv"-en alapuló immunoradiometrikus assay. A teszt nagy affinitású M11 monoklonális antitestet és OC 125 monoklonális antitestet tartalmaz szilárd fázishoz kötve (bevonatos cső) és a tracerben.

Egy-lépéses eljárás

A kötött és tracer-ben jelenlévő antitestek egy lépésben lépnek reakcióba a kalibrátorokban és beteg mintákban jelenlévő CA 125-el. A meg nem kötött anyagok mosással kerülnek eltávolításra. A tracer felesleg kimosása után a cső falán fennmaradó radioaktivitás szcintillációs gamma számlálóval mérhető.

Két-lépéses eljárás

Az első inkubáció alatt a beteg mintákban és kalibrátorokban jelenlévő CA 125 kötődik a teszt csövek falán kötött antitestekhez. A meg nem kötött anyagok eltávolítása mosási lépéssel történik. A második inkubáció alatt a tracerben lévő antitestek reagálnak a már megkötött CA 125-el.

A tracer felesleg eltávolítása egy második mosási lépéssel történik, a cső falán fennmaradó radioaktivitás szcintillációs gamma számlálóval mérhető.

A CA125TM a Fujirebio Diagnostics Inc. védjegye.

A készlet tartalma

Meghatározások száma	50
¹²⁵ I-anti-CA 125, monoklonális (egér), piros radioaktivitás (kBq / μ Ci)	11 mL < 185 /5
6 kalibrátor A-F (1.0 mL) human szérum albuminban	1 készlet
Assay puffer, kék	22 mL
Higito (0 U/mL) human szérum albuminban	6 mL
Teszt csövek, anti-CA 125 bevonattal, monoklonális (egér)	50
Kontroll, humán, liofilizált	1 mL

Meghatározáshoz szükséges egyéb anyagok

- Mikropipetták (100 μ L, 200 μ L, 300 μ L, 1000 μ L) egyszerhasználatos műanyag hegygel
- Vortex mixer
- Manuális vagy automata mosó, leszívó eszközzel
- Horizontális rázó
- Szcintillációs gamma számláló
- Automata analízátor rendszer, ha rendelkezésre áll
- Bevonat mentes polisztirol cső a minták és kontrollok hígításához
- Desztillált víz

I-125 tartalmu reagensek

Ez a készlet olyan I-125 tartalmu anyagokat tartalmaz, melyek radioaktivitása nem haladja meg a 4.83 μ Ci (179 kBq) értéket. Helyes elokészítés és megfelelő laboratóriumi gyakorlat szükséges az anyagok tárolásánál, kezelésénél és a hulladékkezelésnél.

Egyetemes szabályok radioizotópok kezeléséhez:

Ezeket a radioaktív anyagokat csak orvosok, vagy állatorvosok szerezhetik be, birtokolhatják és használhatják humán és állat gyógyászatban, klinikai laboratóriumokban, vagy kórházakban kizárólag in vitro klinikai, vagy laboratóriumi tesztekben, melyek nem foglalják magukban a humán, illetve állati szervezet külső, vagy belső kezelését, arra irányuló sugárzást. Ezen termékek beszerzése, birtoklása, használata szállítása a U.S. Nuclear Regulatory Commission szabályozása alá esik.

1. A radioaktív anyagokat korlátozott, speciálisan jelölt területen kell tárolni.
2. A radioaktív anyagokhoz csak arra jogosult személyek férhetnek.
3. Tilos a radioaktív anyagok szájjal történő pipettázása.
4. A radioaktív munkához kijelölt területen enni és inni tilos.
5. A területet ahová radioaktív anyag lótyen ki fel kell torolni, majd alkáli detergenssel, vagy radioaktivitást dekontamináló oldattal kell felmosni. Az uvegedényeket alaposan ki kell öblíteni vízzel mielőtt más laboratóriumi edénnyel együtt kerülne mosásra.

A radioaktív anyagok kezelésénél a következő speciális szabályok érvényesek:

A radioaktív anyagok kezelésének, használatának, szállításának és hulladékkezelésének szabályozása saját szabályozás alá esik.

FIGYELMEZTETÉS: A készlet olyan vegyületeket tartalmaz melyek rákkeltő hatása ismert.

FIGYELMEZTETÉS: A csomagolás mellékletén feltüntetett radioaktivitás érték némileg eltér a dobozon és a tracer uvegcsé címkéjén feltüntetett radioaktivitás értékektől. A dobozon és a traceres uveg címkéjén feltüntetett érték a kalibráció idején mért aktuális radioaktivitást mutatja, míg a csomagolás mellékletén feltüntetett érték a készlet teoretikus radioaktivitását adja meg.

Sodium-azid tartalmu reagensek

FIGYELMEZTETÉS: A készlet néhány reagense sodium-azid-ot tartalmaz. A sodium-azid olom és réz tartalmu vízvezetékekkel reakcióba lépve robbanásveszélyes fém-azidokat képez. A hulladékot bő vízzel eressze le a felszabaduló azidok kikapadásának megakadályozására. További információkat a "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts," in the Manual Guide-Safety Management No. CDC-22 issued by the Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976 olvashat.

Reagensek elokészítése

Mérés előtt a teszt valamennyi komponensét helyezze szobahőmérsékletre (18–25°C) és alaposan keverje össze. **(Elkerülve a hab képződést.)**

A kontrollt óvatosan kell kinyitni és feloldani 1.0 mL desztillált vízben. **(Elkerülve a hab képződést.)**

Gyozodjon meg róla, hogy az üvegcsé falára kitapadt liofilizált anyag is feloldódott.

Reagensek tárolása

Feloldott kontroll: 2–8°C-on 1 hétig, vagy –20°C-on 4 hétig.

Valamennyi reagens a csomagoláson feltüntetett lejárati ideig 2–8°C-on tárolando.

- **Tárolás alatt tartsa fuggolegesen.**

- **Tartsa távol közvetlen fénytől.**

Mintavétel, mintatípus és tárolás

- Standard eljárásnak megfelelő mintavételt igényel.
- Mintatípus: szérum, EDTA-s és heparin-os plazma.
- Tárolás 2–8°C-on: 24 ora
- Hosszabb tároláshoz fagyassza –20°C alá.
- A fagyasztott minta csak egyszer olvasható fel, így nem befolyásolja a teszt eredményeket.
- A tárolt mintákat használat előtt alaposan össze kell keverni (vortex mixer).
- Ne használjon agglutinált, lipémiás, hemolitikus, icterikus, vagy szennyezett mintákat.

Interferáló tényezok

A bilirubin < 0.125 mg/mL, hemoglobin < 500 mg/dL vagy triglycerides < 12.5 mg/mL koncentrációban nem okoz interferenciát az eredményben.

Modszér leírás

- A különbözok készletek egyes komponenseinek összemérése nagy korútekintést igényel. Különözok LOT számu komponensek keverése, összecserélése a mérés pontosságának bizonytalanságához vezet.
- Ragaszkodjon a megadott pipettázási sorrendhez.
- Válassza a mérési időt legalább 1 percnék.
- Tartsa szem előtt a diagnosztikai laboratóriumok minoségbiztosítási irányelveit.
- Ovja a reagenseket a mikrobiális szennyezodésektől.

Teszt protokoll

Javasolt a kalibrátorok és a minták dublikátumban történó mérése.

Amennyiben a várt érték magasabb a legnagyobb koncentrációju kalibrátor értékénél, a mintát a higitoval tovább kell higitani (pl.: 10, 100, 1000-szeres faktorrall).

A manuális feldolgozást és az automata analizátor használatát a laboratórium saját felelösséggel választhatja.

Egy-lépéses eljárás

1. Pipettázzon 100 µL kalibrátort, kontrollt, beteg mintát a bevonatos csövek aljára.
2. Adjon hozzá 200 µL ¹²⁵I-anti-CA 125-t s rázza össze (vortex mixer). Ne cserélje fel az assay pufferral (kék)
3. Inkubálja a csöveket 3 órát (± 5 perc) szobahőmérsékleten (18–25°C) horizontális rázon.*
4. Szivja le a folyadékot.
5. Mossa a csöveket 3 x 2 mL desztillált vízzel.
6. Mérje le valamennyi cso radioaktivitását (CPM, legalább 1 perc).

100 µL	Kalibrátor, kontroll vagy beteg minta pipettázás a teszt csövek aljára
200 µL	¹²⁵ I-anti-CA 125 bemérés. Ne cserélje fel az assay pufferral (kék)! Keverés
3 hrs (± 5 min)	Inkubálás horizontális rázon szobahőmérsékleten (18–25°C)* Leszívás
3 x 2 mL	Mosás desztillált vízzel
1 min	Mérés (szcintillációs gamma counter)

* **Tartsa a keverési értékeket egyenletesen!**

Optimum:

Amplitudo 20 mm = 150 rpm

Amplitudo 10 mm = 220 rpm

Amplitudo < 8 mm = 300 rpm

Két-lépéses eljárás

Esetleg elvégezhető egy lépéses metodikával a kétlépéses metodika protokollja alapján.

1. Pipettázzon 100 µL kalibrátort, kontrollt, beteg mintát a bevonatos csövek aljára.
2. Adjon hozzá 200 µL assay puffert (kék) s keverje össze (vortex mixer).
3. Inkubálja a csöveket 3 órát (± 5 perc) szobahőmérsékleten (18–25°C) horizontális rázon.*
4. Szivja le a folyadékot.
5. Mossa a csöveket 3 x 2 mL desztillált vízzel.
6. Adjon hozzá 100 µL assay puffert.**
7. Adjon 200 µL ¹²⁵I-anti-CA 125-t valamennyi csóhoz, keverje össze (vortex mixer)**
8. Hagyja valamennyi csövet 20 – 24 órán keresztül szobahőmérsékleten (18–25°C).
9. Szivja le a folyadékot.
10. Mossa a csöveket 3 x 2 mL desztillált vízzel.
11. Mérje le valamennyi cso radioaktivitását (CPM, legalább 1 perc).

** Az assay puffert és a ¹²⁵I-anti-CA 125 oldatot vegyítse (1+2, csak üveg edényben). 300 µL –t mérjen be ebből az oldatból.

100 µL	Kalibrátor, kontroll vagy beteg minta pipettázás a teszt csövek aljára
200 µL	Assay puffer (kék) bemérés
3 hrs (± 5 min)	Inkubálás horizontális rázon szobahomérosékleten (18–25°C)* Leszívás
3 x 2 mL	Mosás desztillált vízzel
100 µL	Assay puffer (kék) bemérés**
200 µL	¹²⁵ I-anti-CA 125 bemérés**
20-24 hours	Inkubálás szobahomérosékleten (18–25°C) Leszívás
3 x 2 mL	Mosás desztillált vízzel
1 min	Mérés (szcintillációs gamma counter)

*** Tartsa a keverési értékeket egyenletesen!**

Optimum:

Amplitudo 20 mm = 150 rpm

Amplitudo 10 mm = 220 rpm

Amplitudo < 8 mm = 300 rpm

Eredmény kiértékelés

A kalibrációs görbe manuálisan a következőképpen határozható meg:

1. Határozza meg valamennyi kalibrátor csöve dublikátum átlag CPM értékét.
2. Ossa el valamennyi kalibrátor átlag CPM értékét (B) a legmagasabb kalibrátor átlag CPM értékével (B_{max}) és szorozza meg 100-al, így megkapja valamennyi kalibrátor relatív beépülési százalékát ($\%B/B_{max}$).
3. Semi-log papíron ábrázolja a relatív beépülési százalékot ($\%B/B_{max}$) az Y-tengelyen a hozzátartozó koncentrációk (U/mL) függvényében (X-tengely).
4. Olvassa le a minták koncentrációját (U/mL) a kalibrációs görbéről a megfelelő relatív beépülési százalék alapján ($\%B/B_{max}$).

Azokat a mintákat, amelyek értéke magasabb, mint a legmagasabb kalibrátor koncentrációja, meg kell higitani higitóval és újból le kell mérni. Ezen a minták végső eredményének a meghatározásakor a higitási faktort figyelembe kell venni.

Készülékkel történő radioimmunológiai mérések kiértékelésénél spline illesztést kell alkalmazni.

Quality Control

Tartsa szem előtt a diagnosztikai laboratóriumokra vonatkozó minoségbiztosítási alapelveket.

Az eredmények érvényesítéséhez és pontosságának megállapításához használjon kontroll szérumot, vagy szérum pool-t.

A kontrollt minden futtatásnál egyidejűleg mérni kell, ezek a kontrollok úgy kezelendők, mintha minták lennének. Minden egyes kontroll koncentrációtartománya jelentésre kerül az elemzési igazoláson, és jelzi azokat a DiaSorin által a kontrollértékek számára megállapított határértékeket, amelyek megbízható assay-futtatások során szerezhetők meg.

Eredmények interpretálása

Az irodalom arról számol be, hogy 372 mérés alapján mely eredmények egészségesnek vélt emberekől származtak (n=25) a referencia tartomány 35 U/mL (12).

A koncentráció változás életkor (2) és menstruációs ciklus függő (11).

A CA 125 értékek a laboratoriumi metodikától függnnek, ezért javasolt a saját referencia tartomány felállítás.

** Az assay puffert és a ¹²⁵I-anti-CA 125 oldatot vegyítse (1+2, csak uveg edényben).
300 µL –t mérjen be ebbol az oldatbol.

Az eljárás korlátai

Carcinomás betegek CA 125 II értéke cut-off alatti lehet.

Emelkedett érték figyelhető meg benignus betegségekben, mint például: pericarditis, különböző máj betegségekben, petefészek cisztában, vagy az uterus, pankreas, máj, tüdő carcinómában (3,8,10). Terhesség alatt a CA 125 II értéke cut-off felé emelkedik (7).

A CA 125II érték onmagában nem elegendő bizonyíték malignus betegség igazolására, vagy kizárására, ezért az eredményeket a klinikai kórképpel és egyéb diagnosztikai eredményekkel együtt szabad interpretálni.

HAMA

A beteg minták human anti-egér antitesteket tartalmaznak (HAMA), melyek fals emelkedést, vagy csökkenést eredményezhetnek. HAMA-neutralizáló ágens kerül hozzáadásra. Ezekhez a mintákhoz nem használható a CA 125 II IRMA assay.

Analitikai adatok

Kalibráció

A CA 125II IRMA teszt hitelesítéséhez a Fujirebio CA 125II assay-t használták.

Mérési tartomány

A mérési tartomány 1 - 500 U/mL.

High-dose hook

Egy-lépéses eljárásnál high-dose hook effektus nem figyelhető meg 50,000 U/mL koncentrációig, valamint két-lépéses eljárásnál high dose hook nem található 100,000 U/mL koncentráció határig.

Precizio

Intra-assay variáció			Inter-assay variáció		
Átlag érték (U/mL)	CV (%)	n=	Átlag érték (U/mL)	CV (%)	n=
42	4.0	9	44	4.8	13
97	4.1	9	98	7.7	10
339	5.5	9	309	6.1	5

Analitikai érzékenység

Az also detektálási határ <1.0 U CA 125/mL. Ez a detektálási határ 3 SD-vel haladja meg a zero standard értéket; ez a legkisebb koncentráció, amelynek a zero standardtól való eltérése már statisztikailag szignifikáns.

Specifitás

Gyógyszer okozta interferenciák.

Nincs keresztreakció cyclophosphamide, doxorubicin, fluorouracil, methotrexate és tamoxifen-el a terápiás tartományban.

Higitási linearitás

Beteg szérumok kerültek higitásra, majd mérésre. A mért és várt értékek lineáris regresszióval kerültek összevetésre.

Eredeti koncentráció: 298.3 U/mL.

Higitás	Mért érték (U/mL)	Várt érték (U/mL)	Visszanyerés (%)
1 : 1.25	223	219	102
1 : 2.5	114	112	101
1 : 5	64	59	108
1 : 10	31	33	95

Visszanyerés

Alacsony CA 125 tartalmu beteg szérumokhoz kulonbozo mennyiségu CA 125 került hozzáadásra és mérésre.

Eredeti koncentráció: 35.2 U/mL.

Mért értékek (U/mL)	Várt értékek (U/mL)	Visszanyerés (%)
326	327	99
152	152	100
91	94	97
64	65	99

IVD

Pouze pro laboratorní použití

Použití soupravy

CA 125II™ IRMA je *in vitro* souprava pro kvantitativní stanovení antigenu CA 125™ (OC 125) v séru a plazmě (nesrážlivé, za použití heparinu nebo EDTA) v rámci sledování pacientů s primárním invazivním ovariálním karcinomem.

Souhrn a vysvětlení testu

Dvě antigenní determinanty definované monoklonálními protilátkami OC125 (1) a M11 (5) se nalézají na heterogenní skupině glykoproteinů s vysokou molekulovou hmotností (molekulová hmotnost 200 000 až 1 000 000).

Tyto glykoproteiny lze detekovat u vysokého procenta nemucinózních epitelálních ovariálních tumorů a v některých fetálních tkáních (amnion, periderm, tkáně odvozené od celomového epitelu) a ve tkáních dospělých jedinců v epitelu vejcovodů, apokrinálních potních žláz, prsních žláz, endometria a endocervixu.

Zvýšené koncentrace stanovené soupravou CA 125II jsou nalézány u většiny pacientek s aktivní epitelální rakovinou vaječníků (4,6) v časných stádiích onemocnění).

Význam stanovení CA 125II spočívá v monitorování účinnosti terapie a zjišťování progresu onemocnění u pacientek s ovariálním karcinomem (9).

Princip metody

Souprava CA 125II IRMA je imunoradiometrické stanovení s využitím dvou vazebných míst (sendvičový princip). Monoklonální protilátky M11 a OC 125, s vysokou afinitou, jsou použity pro pevnou fázi (potažovaná zkumavka) a pro radioindikátor.

Jednokroková metodik

Značená protilátka a protilátka, již je zkumavka potažena, reagují současně s antigenem CA 125 přítomným ve vzorcích nebo ve standardech. Po vymytí nenavázaného radioindikátoru se gama-čítačem změní radioaktivita navázaná na stěnu zkumavky.

Dvoukroková metodika

Během první inkubace se antigen CA 125 přítomný ve vzorcích a ve standardech naváže na protilátku imobilizovanou na stěně zkumavky. Nenavázaný materiál se odstraní v promývacím kroku. Během druhé inkubace reaguje značená protilátka s již navázaným CA 125.

Po odstranění přebytečného radioindikátoru druhým promývacím krokem se gama-čítačem změní radioaktivita navázaná na stěnu zkumavky.

CA125™ je obchodní název firmy Fujirebio Diagnostics Inc.

Reagencie

Počet stanovení:	50
Monoklonální (myši) protilátka anti-CA 125 značená ¹²⁵ I (¹²⁵ I-anti CA 125) barvená červeně, laktivita (kBq / μCi)	11 ml < 185 / 5
6 standardů A-F (<i>Calibrators A-F</i>) (1,0 ml) v lidském sérovém albuminu	1 set
Pufr pro stanovení (<i>Assay buffer</i>): barvený červeně	22 ml
Diluent (<i>Diluent</i>) (0 U/ml), v lidském sérovém albumínu	6 ml
Zkumavky potažené monoklonální (myši) protilátkou proti CA 125 (<i>Test tubes</i>)	50
Kontrolní sérum (<i>Control</i>), lidské, lyofilizát	1 ml

Potřebný, ale nedodávaný materiál

- Mikropipety (100 μl, 200 μl, 300 μl, 1000 μl) s vyměnitelnými plastovými špičkami
- Vibrační míchadlo (vortex)
- Ruční nebo automatická promývačka s odsávacím zařízením
- Horizontální třepačka
- Gama-čítač
- případně vhodný automatický analyzátor
- Nepotažené polystyrenové zkumavky pro naředění séra a kontrol
- Destilovaná voda

Reagencie obsahující ¹²⁵I

Tato souprava obsahuje radioaktivní materiál, jehož aktivita nepřesahuje 179 kBq (4,83 μCi) ¹²⁵I. Během zacházení s radioaktivními materiály a při jejich likvidaci je nutno se řídit platnými právními předpisy a zásadami správné laboratorní praxe.

Pro profesionály a instituce, kterým jsou dodávány radioizotopy podle všeobecné licence:

Tento radioaktivní materiál mohou nabývat, získat, přechovávat a používat pouze lékaři a veterinární lékaři na svých pracovištích, klinické laboratoře nebo nemocnice s příslušnými povoleními a pouze pro diagnostické použití in vitro, které nezahrnuje vnitřní nebo vnější podání materiálu nebo záření z něj vycházejícího lidem nebo zvířatům. Jeho nabývání, získání, přechovávání, použití a přeprava se řídí národními předpisy a nařízeními..

1. Skladování radioaktivních materiálů je vyhrazeno pouze v místech k tomu určených.
2. Přístup k radioaktivnímu materiálu je umožněn pouze autorizovaným osobám.
3. Radioaktivní materiály nepipetujte ústy.
4. Na určeném pracovním místě nejzte, nepijte nebo nekuřte.
5. Rozlitý materiál setřete a veškeré kontaminované plochy umyjte pomocí vhodného roztoku saponátu nebo dekontaminačním roztokem. Použité laboratorní sklo má být dostatečně vypláchnuto vodou a teprve poté přidáno k mytí s ostatním nádobím.

Pro profesionály a instituce, kterým jsou dodávány radioizotopy podle specifické licence:

Příjem, použití, doprava a likvidace radioaktivních materiálů podléhají pravidlům a podmínkám vaší specifické licence.

VAROVÁNÍ: Souprava obsahuje karcinogenní chemikálie.

UPOZORNĚNÍ: Množství aktivity uváděné v tomto návodu se může mírně odlišovat od údajů na vnějším obalu a štítku lavičky s radioindikátorem ¹²⁵I. Údaje na vnějším obalu a štítku lavičky s radioindikátorem uvádějí skutečnou hodnotu aktivity, návod uvádí hodnotu předpokládanou.

Reagencie obsahující azid sodný

UPOZORNĚNÍ: Některé složky tohoto kitu obsahují azid sodný jako konzervans. Azid sodný může reagovat s olověnými či měděnými vodoinstalacemi a vytvářet vysoce výbušné azidy kovových prvků. Při likvidaci zbytků reagentů proplachujte dostatečným množstvím vody, aby bylo zamezeno tvorbě těchto azidů. Podrobnější informace možno nalézt v kapitole "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts", v Manual Guide-Safety Management No. CDC-22, vydaného v Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976.

Příprava reagentů

Před provedením testu nechte všechny součásti soupravy vytemperovat na laboratorní teplotu (18 až 25 °C) a důkladně je promíchejte. **(Zamezte vzniku pěny.)**

Lahvičku obsahující lyofilizované kontrolní sérum opatrně otevřete a rozředte 1 ml destilované vody. **(Zamezte vzniku pěny.)** Zajistěte, aby se rozpustil také lyofilizovaný materiál přichycený na uzávěr.

Skladování reagentů

Rekonstituované kontrolní sérum může být skladováno 1 týden při teplotě 2 až 8 °C nebo 4 týdny při teplotě -20 °C.

Veškeré ostatní reagenty skladujte při teplotě 2 až 8 °C do data expirace uvedeného na obalu.

- Uchovávejte ve svislé poloze!

- Chraňte před přímým světlem!

Sběr, příprava a zacházení se vzorkem

- Sběr vzorků se zajišťuje běžnými metodikami.

- Jako vzorek se používá sérum či plasma (nesrážlivá, za použití heparinu nebo EDTA).

- Vzorky se mohou skladovat až 24 hodin při teplotě 2 až 8 °C.

- Pro skladování po delší dobu vzorky zmrazte na teplotu nižší než -20 °C.

- Zmrazené vzorky lze rozpustit pouze jednou.

- Tyto vzorky se musí bezprostředně před použitím důkladně promíchat (vibrační míchadlo).

- Nepoužívejte vzorky, které jsou sražené, lipemické, hemolytické, ikterické nebo kontaminované.

Interference stanovení s jinými analyty

Nebyla pozorována interference s následujícími analyty v hladinách:

< 0,125 mg/ml pro bilirubin

< 500 mg/dl pro hemoglobin

< 12,5 mg/ml pro triglyceridy

Poznámky k postupu

- Jednotlivé složky každého kitu jsou pečlivě vzájemně sladěny. V případě záměny nebo smíchání jakýchkoli složek z různých šarží výrobce nezaručuje spolehlivé výsledky.

- Přísně dodržujte pořadí pipetovacích kroků.

- Čas měření na gama-čítači musí být upraven tak, aby měření radioaktivity trvalo alespoň 1 minutu.

- Dodržujte pokyny pro kontrolu kvality v klinických laboratořích.

- Zamezte mikrobiální kontaminaci reagentů.

Postup testu

Doporučuje se stanovovat standardy a vzorky v duplikátech.

Pokud se očekávají výsledky vyšší než hodnota nejvyššího standardu, musí se vzorky naředit diluentem (faktory např. 10, 100 1000).

Jako alternativu k manuálnímu stanovení a jeho vyhodnocení lze použít odpovídající automatický analytický systém (na vlastní odpovědnost laboratoře).

Varianta k ručnímu zpracování soupravy a výpočtu výsledků je použití automatizovaného analyzátoru, v zodpovědnosti laboratoře.

Jednokroková metodika

1. Na dno odpovídající potahované zkumavky napipetujte 100 µl standardu, kontroly nebo vzorku.
2. Přidejte 200 µl ¹²⁵I-anti-CA 125, důkladně promíchejte (vibrační míchadlo). Nezaměřte radioindikátor (červený roztok) s pufr pro stanovení (modrý roztok).
3. Zkumavky inkubujte 3 hodiny (± 5 minut) při laboratorní teplotě (18 až 25 °C) na horizontální třepačce.*
4. Kapalínu odsajte.
5. Každou zkumavku promyjte 3 x 2 ml destilované vody.
6. Ve všech zkumavkách změřte radioaktivitu (cpm), doba měření min. 1 minuta.

Schéma pracovního postupu – jednokroková metodika	
100 µl	Na dno odpovídající potahované zkumavky napipetujte standard, kontrolu nebo vzorek
200 µl	Přidejte radioindikátor - ¹²⁵ I-anti-CA 125 Nezaměřte za pufr pro stanovení (modrý roztok)! Promíchejte
3 h (± 5 minut)	Inkubujte při laboratorní teplotě (18 až 25 °C) na třepačce* Odsajte
3 x 2 ml	Promyjte destilovanou vodou
1 min	Změřte (gama-čítač)

* Podmínky třepání udržujte konstantní!

Optimum:

Amplituda 20 mm = 150 otáček za minutu (*rpm*)

Amplituda 10 mm = 220 otáček za minutu (*rpm*)

Amplituda < 8 mm = 300 otáček za minutu (*rpm*)

Dvoukroková metodika

Alternativně k jednokrokovému protokolu se stanovení dá také provést podle dvoukrokového protokolu.

1. Na dno odpovídající potažené zkumavky napipetujte vždy 100 µl standardu, kontroly nebo vzorku.
2. Přidejte 200 µl pufru pro stanovení (modrý roztok), důkladně promíchejte (vibrační míchadlo).
3. Všechny zkumavky inkubujte 3 hodiny (± 5 minut) při teplotě místnosti (18 až 25 °C) na horizontální třepačce.*
4. Kapalínu odsajte.
5. Každou zkumavku promyjte 3 x 2 ml destilované vody.
6. Přidejte 100 µl pufru pro stanovení.**
7. Přidejte 200 µl ¹²⁵I-anti-CA 125, důkladně promíchejte (vibrační míchadlo)*
8. Všechny zkumavky inkubujte 20 až 24 hodin při laboratorní teplotě (18 až 25 °C) při stání.

** Pufr pro stanovení a ¹²⁵I-anti-CA 125 se mohou slít (1:2, pouze do skleněné nádoby). Do každé zkumavky napipetujte 300 µl tohoto roztoku.

9. Kapalinu odsajte.
10. Každou zkumavku promyjte 3 x 2 ml destilované vody.
11. Ve všech zkumavkách změřte radioaktivitu (cpm), doba měření min. 1 minuta.

*** Podmínky třepání udržujte konstantní!**

Optimum:

Amplituda 20 mm = 150 otáček za minutu (*rpm*)

Amplituda 10 mm = 220 otáček za minutu (*rpm*)

Amplituda < 8 mm = 300 otáček za minutu (*rpm*)

** Pufr pro stanovení a ^{125}I -anti-CA 125 se mohou slít (1:2, pouze do skleněné nádoby).
Do každé zkumavky napipetujte 300 μl tohoto roztoku.

Výpočet výsledků

Kalibrační křivka se ručně sestaví následujícím způsobem:

1. Pro každý pár duplikátních zkumavek stanovte střední hodnotu cpm (počet impulsů za minutu).
2. Vydělte střední hodnotu cpm každého standardu (B) střední hodnotou cpm nejvyššího standardu (B_{max}) a vynásobte 100x k získání procenta relativní vazby ($\%B/B_{\text{max}}$) pro každý standard.
3. Na semilogaritmickém papíru vyneste relativní vazbu každého standardu na osu Y proti odpovídajícím koncentracím (U/ml) na ose X.
4. Koncentrace vzorků (U/ml) odečtete přímo z kalibrační křivky podle odpovídající hodnoty relativní vazby ($\%B/B_{\text{max}}$).

Vzorky s četností impulsů vyššími než nejvyšší standard se musí naředit diluentem ze soupravy a znovu stanovit. Skutečné koncentrace naředěných vzorků se zjistí po vynásobení dilučním faktorem. Zpráva o kontrole kvality obsahuje příklad kalibrační křivky. Tato křivka se nesmí použít při výpočtu neznámých vzorků.

Při hodnocení radioimunologického stanovení pomocí výpočetní techniky použijte výpočet typu spline.

Kontrola kvality

Dodržujte pokyny pro kontrolu kvality v klinických laboratořích.

Validita a přesnost výsledků se musí kontrolovat pomocí kontrolních sér nebo sér připravených laboratoří.

Kontrolní sérum obsažené v kitu je vhodně upraveno pro použití při interní kontrole prováděné v laboratoři. Toto kontrolní sérum se musí testovat současně v každé sérii analýz za stejných podmínek jako vzorky. Rozmezí koncentrací každého kontrolního séra je uvedeno na osvědčení o analýze a představuje limity stanovené společností DiaSorin pro hodnoty kontrolních sér, které lze získat pomocí spolehlivých stanovení.

Očekávané hodnoty

Výsledky stanovení vzorků 372 dárců potvrzují údaje v literatuře (12, viz originál návod k použití), které uvádějí normální hodnoty zdravých jedinců ($n=25$) ve výši 35 U/ml.

Odchyly od těchto hodnot byly nicméně zjištěny a jsou závislé na věku (2) a fázi menstruačního cyklu (11).

Vzhledem k tomu, že hodnoty CA 125 se mohou lišit v závislosti na použité laboratorní metodě, musí si každá laboratoř stanovit své vlastní referenční rozmezí.

Omezení metodiky

Pacientky s maligním onemocněním mohou vykazovat hodnoty CA 125 v normálním rozmezí. Zvýšené hodnoty CA 125 lze pozorovat u pacientů s benigními chorobami, jako je perikarditida, těžké chronické poškození jater, těžká endometrióza a ovariální cesty, nebo mohou být spojeny s karcinomy dělohy, slinivky břišní, jater nebo plic (3,8,10). Hodnoty CA 125 mohou rovněž vystoupit nad normální rozmezí během těhotenství (7).

Sérové hodnoty CA 125 tudíž neposkytují žádný důkaz přítomnosti nebo nepřítomnosti tumoru. Lze je interpretovat pouze v kontextu s klinickým obrazem a jinými diagnostickými postupy.

HAMA

Vzorky pacientů obsahující lidské protilátky proti myším protilátkám (HAMA) mohou vykazovat falešně zvýšené nebo snížené hodnoty. Ačkoliv se k testovacím reagentům přidávají látky neutralizující HAMA, mohou extrémně vysoké sérové koncentrace HAMA zapříčinit nesprávnost výsledků. Tyto vzorky se nesmějí pro stanovení soupravou IRMA-mat[®] CA 125[®] použít.

Analytické parametry soupravy

Kalibrace

Souprava byla kalibrována za použití soupravy Fujirebio CA 125II.

Rozsah měření

IRMA-mat[®] CA 125 II[™] umožňuje měření koncentrací mezi 1 až 500 U/ml.

High-dose hook

V případě jedнокrokové metodiky byl uvedený jev pozorován při hladinách vyšších než 50 000 U/ml. V případě dvoukrokové metodiky byl uvedený jev pozorován při hladinách vyšších než 100 000 U/ml.

Přesnost

Intra-assay			Inter-assay		
Mean (U/ml)	CV (%)	n=	Mean (U/ml)	CV (%)	n=
42	4,0	9	44	4,8	13
97	4,1	9	98	7,7	10
339	5,5	9	309	6,1	5

Analytická senzitivita

Detekční limit soupravy je nižší než 1,0 U CA 125/ml. Tento limit je definován jako hodnota lišící se od nulového standardu o 3 směrodatné odchylky, je to nejnižší koncentrace CA 125 II, kterou lze se statistickou významností rozlišit od nuly.

Specificit

Interference s léčivými látkami:

Nebyly zjištěny žádné zkřížené reakce s cyklofosfamidem, doxorubicinem, fluorouracilem, methotrexátem a tamoxifenem v terapeutických hladinách.

Linearita při ředění

Vzorek byl naředěn diluentem a poté změřen. Naměřené hodnoty byly porovnány s hodnotami očekávanými pomocí výpočtu lineární regrese.

Původní koncentrace: 298,3 U/ml.

Ředění	Změřená hodnota (U/ml)	Očekávaná hodnota (U/ml)	Recovery (%)
1 : 1,25	223	219	102
1 : 2,5	114	112	101
1 : 5	64	59	108
1 : 10	31	33	95

Recovery

Ke vzorku s nízkou koncentrací CA 125 byla přidána různá množství CA 125.

Původní koncentrace: 35,2 U/ml.

Změřená hodnota (U/ml)	Očekávaná hodnota (U/ml)	Recovery (%)
326	327	99
152	152	100
91	94	97
64	65	99

IVD

Μόνο για χρήση από επαγγελματίες!

Χρήση για την οποία προορίζεται

Εξέταση *in vitro* για τον ποσοτικό προσδιορισμό του αντιγόνου CA 125™ (OC 125 ορισμένο αντιγόνο) στον ορό, καθώς και σε πλάσμα EDTA και πλάσμα ηπαρίνης κατά την παρακολούθηση ασθενών με πρωτοπαθή διηθητικό καρκίνωμα ωοθηκών.

Περίληψη και ερμηνεία της δοκιμής

Οι δύο αντιγονικοί καθοριστές που ορίζονται από τα μονοκλωνικά αντισώματα OC125(1) και M11(5) απαντώνται σε μια ετερογενή ομάδα μακρομοριακών γλυκοπρωτεϊνών (μοριακό βάρος 200.000 έως 1.000.000).

Οι γλυκοπρωτεΐνες αυτές μπορούν να ανιχνευτούν στα περισσότερα μη βλεννώδη επιθηλιακά καρκινώματα ωοθηκών, εκτός από μερικά εμβρυϊκά κύτταρα (εμβρυοθυλάκιο, περίδερμα, παράγωγα του κοιλωματικού επιθηλίου) και στο επιθήλιο των ωαγωγών σαλπίνγγων, το ενδομήτριο, τους αποκρινείς ιδρωτοποιούς αδένες, τους μαστικούς αδένες και το ενδοτράχηλο.

Αυξημένες τιμές στον προσδιορισμό CA 125II απαντώνται στον ορό των περισσότερων ασθενών με ενεργό καρκίνωμα ωοθηκών στα πρώτα στάδια της νόσου (4,6).

Η διαγνωστική αξία του προσδιορισμού CA 125II βρίσκεται στην παρακολούθηση της θεραπείας και την εξέλιξη ασθενών με καρκίνωμα ωοθηκών (9).

Αρχές της διαδικασίας

Αποτελεί ανοσοραδιομετρικό προσδιορισμό που βασίζεται στην αρχή του “σάντουιτς”. Το μονοκλωνικό αντίσωμα υψηλής συγγένειας M11 και το μονοκλωνικό αντίσωμα OC 125 χρησιμοποιούνται για την επικάλυψη της στερεής φάσης (επικαλυμμένος δοκιμαστικός σωλήνας) και για τον ιχνοθέτη.

Μέθοδος ενός βήματος

Τα αντισώματα επικάλυψης και τα αντισώματα ιχνηθέτη αντιδρούν σε ένα βήμα αντίδρασης με το CA 125 που υπάρχει στους βαθμονομητές ή στα δείγματα ασθενών. Το αδέσμευτο υλικό απομακρύνεται με ένα βήμα πλύσης. Μετά την πλύση του πλεονάζοντος ιχνηθέτη, μετράται η ραδιενέργεια που είναι δεσμευμένη στο τοίχωμα του δοκιμαστικού σωλήνα με μετρητή σπινθηρισμών γάμα.

Μέθοδος δύο βημάτων

Κατά την πρώτη επώαση, το CA 125 που υπάρχει στα δείγματα ασθενών και στους βαθμονομητές δεσμεύεται από το αντίσωμα που έχει ακινητοποιηθεί στο τοίχωμα του δοκιμαστικού σωλήνα. Το αδέσμευτο υλικό απομακρύνεται με ένα βήμα πλύσης. Κατά τη δεύτερη επώαση, το αντίσωμα ιχνηθέτη αντιδρά με το CA 125 που έχει ήδη δεσμευτεί.

Μετά την απομάκρυνση του πλεονάζοντος ιχνηθέτη με ένα δεύτερο βήμα πλύσης, μετράται η ραδιενέργεια που είναι δεσμευμένη στο τοίχωμα του δοκιμαστικού σωλήνα με μετρητή σπινθηρισμών γάμα.

CA125™ είναι εμπορικό σήμα κατατεθέν της Fujirebio Diagnostics Inc.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ Υλικά που παρέχονται

Προσδιορισμοί	50
¹²⁵ I-anti-CA 125, μονοκλωνικό (ποντικού), ερυθρό περιεχόμενο ραδιενέργειας (kBq / μCi)	11 mL < 185 /5
6 βαθμονομητές A έως F (1,0 mL) σε λευκωματίνη ανθρώπινου ορού	1 σετ
Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού, κυανό	22 mL
Αραιωτικό (0 U/mL) σε λευκωματίνη ανθρώπινου ορού	6 mL
Δοκιμαστικοί σωλήνες, επικαλυμμένοι με anti-CA 125, μονοκλωνικό (ποντικού)	50
Υλικό ελέγχου, ανθρώπινο, λυοφιλιώμενο	1 mL

Υλικά που απαιτούνται, αλλά δεν παρέχονται

- Μικροπιπέτες (100 μL, 200 μL, 300 μL, 1000 μL) με αναλώσιμες πλαστικές μύτες
- Όργανο περιδίνησης (vortex)
- Χειροκίνητη ή αυτόματη συσκευή πλύσης με συσκευή αναρρόφησης
- Οριζόντιος αναδευτήρας
- Μετρητής σπινθηρισμών γάμα
- Εναλλακτικά, ένα κατάλληλο αυτοματοποιημένο σύστημα αναλυτή, αν διατίθεται
- Δοκιμαστικοί σωλήνες πολυστυρενίου χωρίς επικάλυψη για την αραιώση του ορού και των υλικών ελέγχου
- Κεκαθαρμένο νερό

Αντιδραστήρια που περιέχουν ιώδιο 125

Το kit αυτό περιέχει ραδιενεργό υλικό το οποίο δεν υπερβαίνει τα 4,83 μCi (179 kBq) σε ιώδιο 125. Κατά τη φύλαξη, το χειρισμό και τη διάθεση του υλικού αυτού, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλες προφυλάξεις και καλές εργαστηριακές πρακτικές.

Προς ιατρούς ή ιδρύματα που παραλαμβάνουν ραδιοϊσότοπα κάτω από γενική άδεια:

Το παρόν ραδιενεργό υλικό μπορεί να ληφθεί, να αποκτηθεί, να κατέχεται και να χρησιμοποιείται μόνο από ιατρούς, κτηνίατρους που ασκούν κτηνιατρική ιατρική, κλινικά εργαστήρια ή νοσοκομεία και μόνο για κλινικές ή εργαστηριακές δοκιμές *in vitro* που δεν περιλαμβάνουν την εσωτερική ή εξωτερική χορήγηση του υλικού, ή της ακτινοβολίας αυτού, σε ανθρώπους και ζώα. Η παραλαβή, η απόκτηση, η κατοχή, η χρήση και η μεταφορά υπόκεινται στους κανονισμούς και τη γενική άδεια της Ρυθμιστικής Επιτροπής Πυρηνικών των Η.Π.Α. (NRC) ή της πολιτείας με την οποία η επιτροπή έχει συνάψει συμφωνία για την άσκηση καθηκόντων αρμόδιας αρχής.

1. Η φύλαξη του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να περιοριστεί σε ειδικά επισημασμένο χώρο.
2. Η πρόσβαση σε ραδιενεργά υλικά πρέπει να περιοριστεί μόνο σε εξουσιοδοτημένο προσωπικό.
3. Μη χρησιμοποιείτε πιπέτα με το στόμα για ραδιενεργά διαλύματα.
4. Μην τρώτε ή πίνετε εντός των χώρων εργασίας που έχουν επισημανθεί ως ραδιενεργοί.
5. Οι περιοχές, όπου ενδεχομένως έχουν προκληθεί εκχύσεις, θα πρέπει να σκουπιστούν και κατόπιν να πλυθούν με αλκαλικό απορρυπαντικό ή ραδιολογικό απολυμαντικό διάλυμα. Τυχόν γυάλινα σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν πρέπει να εκπλυθούν καλά με νερό πριν από την πλύση άλλων εργαστηριακών γυάλινων σκευών.

Προς ιατρούς ή ιδρύματα που παραλαμβάνουν ραδιοϊσότοπα κάτω από ειδική άδεια:

Η παραλαβή, η χρήση, η μεταφορά και η διάθεση των ραδιενεργών υλικών υπόκεινται στους κανονισμούς και τις συνθήκες της ειδικής άδειάς σας.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Το προϊόν αυτό περιέχει μια χημική ουσία η οποία είναι γνωστό από την πολιτεία της Καλιφόρνια ότι προκαλεί καρκίνο.

ΠΡΟΣΟΧΗ: Η ραδιενέργεια που αναγράφεται στο ένθετο συσκευασίας μπορεί να διαφέρει ελαφρώς από τη ραδιενέργεια που αναγράφεται στην ετικέτα συσκευασίας ή στην ετικέτα φιαλιδίου ιχνηθέτη. Η ετικέτα συσκευασίας και η ετικέτα φιαλιδίου ιχνηθέτη υποδεικνύουν την πραγματική ποσότητα ραδιενέργειας κατά την ημερομηνία βαθμονόμησης, ενώ το ένθετο συσκευασίας υποδεικνύει τη θεωρητική ραδιενέργεια του kit.

Αντιδραστήρια που περιέχουν αζίδιο του νατρίου

ΠΡΟΣΟΧΗ: Μερικά αντιδραστήρια στο kit αυτό περιέχουν αζίδιο του νατρίου. Το αζίδιο του νατρίου μπορεί να αντιδράσει με τις σωληνώσεις μολύβδου ή χαλκού και να σχηματίσει εξαιρετικά εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Κατά την απόρριψη, εκπλύνετε με άφθονη ποσότητα νερού για να εμποδίσετε τη συσσώρευση αζιδίων. Για πρόσθετες πληροφορίες, ανατρέξτε στην ενότητα «Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts», στον οδηγό διαχείρισης ασφάλειας με κωδικό CDC-22 που εκδίδεται από τα Κέντρα για τον Έλεγχο και την Πρόληψη Νόσων στην Ατλάντα της Τζόρτζια, 1976.

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Αφήστε τα συστατικά της εξέτασης να φτάσουν σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 25°C) πριν την εξέταση και αναμίξτε καλά. **(Να μη σχηματιστεί αφρός).**

Ανοίξτε προσεκτικά το υλικό ελέγχου και εκτελέστε ανασύσταση με 1,0 mL κεκαθαρισμένου νερού.

(Να μη σχηματιστεί αφρός). Βεβαιωθείτε ότι έχει διαλυθεί και το λυοφιλιωμένο υλικό που είναι προσκολλημένο στο καπάκι.

Φύλαξη αντιδραστηρίων

Ανασυσταθέν υλικό ελέγχου: 1 εβδομάδα στους 2 έως 8°C ή 4 εβδομάδες στους -20°C.

Φυλάξτε όλα τα άλλα αντιδραστήρια στους 2 έως 8°C. Χρησιμοποιήστε πριν την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη συσκευασία.

- **Φυλάσσετε σε όρθια θέση.**

- **Μακριά από άμεσο φως.**

Δειγματοληψία, υλικά και φύλαξη

- Συλλέξτε δείγματα με χρήση πρότυπων διαδικασιών.
- Υλικά δείγματος: ορός, πλάσμα EDTA και πλάσμα ηπαρίνης
- Φυλάσσεται στους 2 έως 8°C: 24 ώρες
- Για φύλαξη για μεγαλύτερες χρονικές περιόδους, καταψύξτε τα δείγματα στους -20°C
- Η κατάψυξη και απόψυξη των δειγμάτων μία φορά δεν επηρεάζει τα αποτελέσματα της εξέτασης.
- Θα πρέπει να αναμιγνύετε καλά τα αποθηκευμένα δείγματα πριν από τη χρήση (σε όργανο περιδίνησης).
- Μην χρησιμοποιείτε ορό με συγκολλήσεις ή λιπαιμικό, αιμολυμένο, ικτερικό ή μολυσμένο ορό.

Παρεμβαλλόμενες ουσίες

Δεν έχει παρατηρηθεί παρεμβολή στα αποτελέσματα της εξέτασης σε συγκεντρώσεις χολερυθρίνης <0,125 mg/mL, αιμοσφαιρίνης <500 mg/dL ή τριγλυκεριδίων <12,5 mg/mL.

Διαδικαστικές σημειώσεις

- Υπάρχει προσεκτική αντιστοιχία μεταξύ των ξεχωριστών συστατικών του kit. Σε περίπτωση που ανταλλάσσονται ή αναμιγνύονται συστατικά διαφορετικών παρτίδων, ο κατασκευαστής δεν εγγυάται την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.
- Τηρήστε αυστηρά τη σειρά των βημάτων διανομής με πιπέτα.
- Ρυθμίστε το χρόνο μέτρησης σε 1 τουλάχιστον λεπτό.
- Τηρήστε τις κατευθυντήριες οδηγίες ποιοτικού ελέγχου για ιατρικά εργαστήρια.
- Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων.

Διαδικασία εξέτασης

Συνιστάται οι βαθμονομητές και τα δείγματα να μετρώνται εις διπλούν.

Σε περίπτωση που αναμένετε τιμές πάνω από τον υψηλότερο βαθμονομητή, θα πρέπει να αραιώσετε τα δείγματα περαιτέρω με το αραιωτικό (π.χ. παράγοντες αραιώσης 10, 100, 1000).

Ως εναλλακτικό της χειροκίνητης απόδοσης και αξιολόγησης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένα κατάλληλο σύστημα αυτοματοποιημένης ανάλυσης με ευθύνη του εργαστηρίου.

Μέθοδος ενός βήματος

1. Τοποθετήστε με πιπέτα 100 μL βαθμονομητή, υλικό ελέγχου ή δείγμα ασθενή στο κάτω μέρος του επικαλυμμένου δοκιμαστικού σωλήνα.
2. Προσθέστε 200 μL ¹²⁵I-anti-CA 125 και αναμίξτε (όργανο περιδίνησης). Μη συγχέετε με το ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού (κυανό).
3. Επώαστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες για 3 ώρες (± 5 λεπτά) σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 25°C) σε οριζόντιο αναδευτήρα.*
4. Αναρροφήστε το υγρό.
5. Πλύνετε όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες 3 φορές με 2 mL κεκαθαρμένου νερού.
6. Μετρήστε τη ραδιενέργεια (CPM) σε όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες (1 τουλάχιστον λεπτό).

100 μL	Τοποθετήστε με πιπέτα το βαθμονομητή, το υλικό ελέγχου ή το δείγμα ασθενή στο κάτω μέρος ενός δοκιμαστικού σωλήνα.
200 μL	Προσθέστε ¹²⁵ I-anti-CA 125 Μη συγχέετε με το ρυθμιστικό διάλυμα του προσδιορισμού (κυανό)! Ανάμιξη
3 ώρες (± 5 λεπτά)	Επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 25°C) σε αναδευτήρα* Αναρρόφηση
3 x 2 mL	Πλύνετε με κεκαθαμένο νερό.
1 λεπτό	Μετρήστε (μετρητής σπινθηρισμών γάμα)

* Διατηρήστε σταθερές τις συνθήκες ανάδευσης!

Βέλτιστες συνθήκες:

Ύψος 20 χλστ. = 150 σ.α.λ.

Ύψος 10 χλστ. = 220 σ.α.λ.

Ύψος < 8 χλστ. = 300 σ.α.λ.

Μέθοδος δύο βημάτων

Εναλλακτικά του πρωτοκόλλου ενός βήματος, η εξέταση μπορεί επίσης να εκτελεστεί σύμφωνα με ένα πρωτόκολλο δύο βημάτων.

1. Τοποθετήστε με πιπέτα 100 μL βαθμονομητή, υλικό ελέγχου ή δείγμα ασθενή στο κάτω μέρος του επικαλυμμένου δοκιμαστικού σωλήνα.
2. Προσθέστε 200 μL ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού (κυανό) και αναμίξτε (όργανο περιδίνησης).
3. Επώαστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες για 3 ώρες (± 5 λεπτά) σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 25°C) σε οριζόντιο αναδευτήρα.*
4. Αναρροφήστε το υγρό.
5. Πλύνετε όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες 3 φορές με 2 mL κεκαθαρμένου νερού.
6. Προσθέστε 100 μL ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού.**

7. Προσθέστε 200 μL ^{125}I -anti-CA 125 και αναμίξτε (όργανο περιδίνησης)**
8. Αφήστε όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες για 20 έως 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 25°C).
9. Αναρροφήστε το υγρό.
10. Πλύνετε όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες 3 φορές με 2 mL κεκαθαμένου νερού.
11. Μετρήστε τη ραδιενέργεια (CPM) σε όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες (1 τουλάχιστον λεπτό).

100 μL	Τοποθετήστε με πιπέτα το βαθμονομητή, το υλικό ελέγχου ή το δείγμα ασθενή στο κάτω μέρος ενός δοκιμαστικού σωλήνα.
200 μL	Προσθέστε ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού (κυανό)
3 ώρες (\pm 5 λεπτά)	Επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 25°C) σε αναδευτήρα* Αναρρόφηση
3 x 2 mL	Πλύνετε με κεκαθαμένο νερό.
100 μL	Προσθέστε ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού (κυανό)**
200 μL	Προσθέστε ^{125}I -anti-CA 125**
20 έως 24 ώρες	Επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 25°C) Αναρρόφηση
3 x 2 mL	Πλύνετε με κεκαθαμένο νερό.
1 λεπτό	Μετρήστε (μετρητής σπινθηρισμών γάμα)

* Διατηρήστε σταθερές τις συνθήκες ανάδευσης!

Βέλτιστες συνθήκες:

Ύψος 20 χλστ. = 150 σ.α.λ.

Ύψος 10 χλστ. = 220 σ.α.λ.

Ύψος < 8 χλστ. = 300 σ.α.λ.

** Μπορείτε επίσης να αναμίξετε το ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού και το διάλυμα ^{125}I -anti-CA 125 (1+2, μόνο σε γυάλινα δοχεία). Μπορείτε κατόπιν να τοποθετήσετε με πιπέτα 300 μL του διαλύματος αυτού.

Υπολογισμός αποτελεσμάτων

Μπορείτε να υπολογίσετε την καμπύλη βαθμονόμησης ως εξής:

1. Υπολογίστε το μέσο CPM για κάθε ζεύγος δοκιμαστικών σωλήνων (διπλός προσδιορισμός).
2. Διαιρέστε το μέσο CPM κάθε βαθμονομητή (B) με το μέσο CPM του υψηλότερου βαθμονομητή (B_{max}) και πολλαπλασιάστε με 100 για να έχετε το ποσοστό της σχετικής δέσμευσης ($\%B/B_{\text{max}}$) για κάθε βαθμονομητή.
3. Σε ημιλογαριθμικό χαρτί, σχεδιάστε τις σχετικές δεσμεύσεις για κάθε βαθμονομητή ($\%B/B_{\text{max}}$) στον άξονα Y συναρτήσει των αντίστοιχων συγκεντρώσεων (U/mL) στον άξονα X.
4. Μπορείτε κατόπιν να υπολογίσετε τις συγκεντρώσεις των δειγμάτων (U/mL) κατευθείαν από την καμπύλη βαθμονόμησης με τη βοήθεια της αντίστοιχης σχετικής δέσμευσής τους ($\%B/B_{\text{max}}$).

Σε περίπτωση που η μετρούμενη ραδιενέργεια βρίσκεται πάνω από τον υψηλότερο βαθμονομητή, θα πρέπει να αραιώσετε τα δείγματα με αραιωτικό και να τα μετρήσετε ξανά. Για τα αραιωμένα δείγματα, πρέπει να υπολογιστεί η πραγματική συγκέντρωση ορού και ο κατάλληλος παράγοντας αραιώσης.

Ο υπολογισμός με όργανο των ραδιοανοσολογικών μετρούμενων τιμών εκτελείται με χρήση της προσαρμογής spline.

Ποιοτικός έλεγχος

Τηρήστε τις κατευθυντήριες οδηγίες ποιοτικού ελέγχου για ιατρικά εργαστήρια.

Θα πρέπει να ελέγχετε την εγκυρότητα και την ακρίβεια των αποτελεσμάτων με ορό ελέγχου ή μίγμα από ορούς που έχει παρασκευαστεί από το εργαστήριο.

Το υλικό ελέγχου που συμπεριλαμβάνεται στο κιτ αυτό είναι κατάλληλο για εσωτερικό ποιοτικό έλεγχο στο εργαστήριο. Θα πρέπει να εξετάζετε αυτό το υλικό ελέγχου ταυτόχρονα σε κάθε εκτέλεση εξέτασης και να το χειρίζεστε όπως τα δείγματα ασθενών. Το εύρος των συγκεντρώσεων κάθε ελέγχου αναφέρεται στο πιστοποιητικό ανάλυσης και δείχνει τα όρια που έχουν καθοριστεί από την DiaSorin για τιμές ελέγχων που μπορούν να επιτευχθούν σε αξιόπιστους κύκλους εξετάσεων.

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Η εξέταση 372 ατόμων επιβεβαίωσε την τιμή αναφοράς 35 U/mL για φαινομενικά υγιή άτομα (n=25) που συναντάται στη βιβλιογραφία (12).

Βρέθηκαν, ωστόσο, διαφορές από τη συγκέντρωση αυτή ανάλογα με την ηλικία (2) και τον εμμηνορροϊκό κύκλο (11).

Επειδή οι τιμές CA 125 μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με την εργαστηριακή μέθοδο που χρησιμοποιείται, κάθε εργαστήριο θα πρέπει να πιστοποιήσει τη δική του περιοχή τιμών αναφοράς.

Περιορισμοί της διαδικασίας

Οι ασθενείς με καρκινώματα ενδεχομένως να παρουσιάζουν τιμές προσδιορισμού CA 125II που είναι χαμηλότερες από την τιμή αποκλεισμού.

Ενδεχομένως να παρατηρηθούν αυξημένες τιμές σε ασθενείς με καλοήθεις νόσους όπως περικαρδίτιδα, ηπατική ασθένεια βαριάς μορφής, ενδομητρίωση βαριάς μορφής, κυστικές ωοθήκες ή καρκίνωμα της μήτρας, του παγκρέατος, του ήπατος ή του πνεύμονα (3, 8, 10). Κατά την εγκυμοσύνη, ενδεχομένως οι τιμές προσδιορισμού CA 125II να υπερβούν την τιμή αποκλεισμού (7).

Επομένως, οι τιμές CA 125II από μόνες τους δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως απόδειξη για την παρουσία ή τον αποκλεισμό μιας κακοήθους νόσου και η ερμηνεία τους θα πρέπει να γίνεται σε συνδυασμό με άλλα κλινικά ευρήματα και διαγνωστικές διαδικασίες.

HAMA

Η πλειοψηφία των δειγμάτων ασθενών που περιέχουν ανθρώπινα αντισώματα έναντι ποντικού (HAMA) ενδεχομένως να παρουσιάσουν ψευδώς αυξημένες ή μειωμένες τιμές. Στην εξέταση προστίθενται μέσα εξουδετέρωσης HAMA. Ωστόσο, δεν μπορεί να αποκλειστεί η επίδρασή των αποτελεσμάτων. Τα δείγματα αυτά δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για το CA 125 II IRMA.

Αναλυτικά δεδομένα

Βαθμονόμηση

Το CA 125II IRMA έχει βαθμονομηθεί με χρήση του προσδιορισμού CA 125II της Fujirebio.

Περιοχή τιμών μέτρησης

Η περιοχή τιμών μέτρησης είναι 1 έως 500 U/mL.

Φαινόμενο «άγκιστρου» υψηλής δόσης

Με τη μέθοδο ενός βήματος, δεν παρατηρήθηκε φαινόμενο «άγκιστρου» υψηλής δόσης για συγκεντρώσεις έως 50.000 U/mL, ενώ με τη μέθοδο δύο βημάτων δεν παρατηρήθηκε φαινόμενο «άγκιστρου» υψηλής δόσης για συγκεντρώσεις έως 100.000 U/mL.

Ακρίβεια

Διακύμανση στον ίδιο προσδιορισμό			Διακύμανση μεταξύ σειράς προσδιορισμών		
Μέση τιμή (U/mL)	ΣΔ (%)	n=	Μέση τιμή (U/mL)	ΣΔ (%)	n=
42	4,0	9	44	4,8	13
97	4,1	9	98	7,7	10
339	5,5	9	309	6,1	5

Αναλυτική ευαισθησία

Το κατώτερο όριο ανίχνευσης είναι < 1,0 U CA 125/mL. Αυτό το όριο ανίχνευσης ορίζεται ως η τιμή που υπερβαίνει το μηδενικό πρότυπο κατά μια ποσότητα που ισούται με τρεις τυπικές αποκλίσεις. Είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση CA 125II που μπορεί να διαφοροποιηθεί από το μηδέν με στατιστική σημασία.

Ειδικότητα

Παρεμβολή από άλλα φάρμακα

Δεν βρέθηκε διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με κυκλοφωσφαμίδη, δοξορουβικίνη, φθοριοουρακίλη, μεθοτρεξάτη και ταμοξιφαίνη σε θεραπευτικές περιοχές τιμών.

Γραμμικότητα κατά την αραιώση

Αραιώθηκε ορός ασθενή με αραιωτικό και κατόπιν μετρήθηκε. Οι μετρούμενες τιμές συγκρίθηκαν με τις αναμενόμενες τιμές που λήφθηκαν από γραμμική παλινδρόμηση. Αρχική συγκέντρωση: 298,3 U/mL

Αραιώση	Μετρούμενη τιμή (U/mL)	Αναμενόμενη τιμή (U/mL)	Ανάκτηση (%)
1 : 1,25	223	219	102
1 : 2,5	114	112	101
1 : 5	64	59	108
1 : 10	31	33	95

Ανάκτηση

Ο ορός από ασθενή με χαμηλή συγκέντρωση CA 125 μολύνθηκε με διαφορετικές ποσότητες CA 125.







Αρχική συγκέντρωση: 35,2 U/mL

Μετρούμενη τιμή (U/mL)	Αναμενόμενη τιμή (U/mL)	Ανάκτηση (%)
326	327	99
152	152	100
91	94	97
64	65	99

**References – Bibliografia – Références – References – Bibliografia – Irodalom –
Odkazy – Βιβλιογραφία**







1. Bast RC, Feeney M, Lazarus H, Nadler LM, Colvin RB, Knapp RC. Reactivity of a Monoclonal Antibody with Human Ovarian Carcinoma. *J Clin Invest* 1981; **68**: 1331-1337
2. Bonfrère JMG, Korse CM, Verstraeten RA, Van Kamp GJ, Hart GAM, Kenemans P. Clinical evaluation of the Byk LIA-mat CA 125II assay: discussion of a reference value. *Clin Chem* 1997; **43** (3): 491-497
3. Daoud E, Bodor G. CA-125 Concentrations in Malignant and Nonmalignant Disease (Washington University Case Conference). *Clin Chem* 1991; **37** (11): 1968-1974
4. Frasci G, Conforti S, Zullo F, Mastrantonio P, Comella G, Comella P, Persico G, Iaffaioli RV. A Risk Model for Ovarian Carcinoma Patients Using CA 125. *Cancer* 1996; **77**: 1122-1130
5. Hardardóttir H, Parmley TH, Quirk JG, Sanders MM, Miller FC, O'Brien TJ. Distribution of CA 125 in embryonic tissues and adult derivatives of the fetal periderm. *Am J Obstet Gynec* 1990; **163** (6): 1925-1931
6. Hasholzner U, Baumgartner L, Stieber P, Meier W, Reiter W, Pahl H, Fateh-Moghadam A. Clinical Significance of the Tumour Markers CA 125 and CA 72-4 in Ovarian Carcinoma. *Int J Cancer (Pred Oncol)* 1996; **69**: 329-334
7. Jacobs IJ, Fay TM, Yovich J, Stabile I, Frost C, Turner J, Oran DH, Grudzinskas JG. Serum levels of CA 125 during the first trimester of normal outcome, ectopic and anembryonic pregnancies. *Human Reproduction* 1990; **5** (1): 116-122
8. Koninckx PR, Meuleman C, Oosterlynck D, Cornillie FJ. Diagnosis of deep endometriosis by clinical examination during menstruation and plasma CA-125 concentration. *Fertil Steril* 1996; **65**(2): 280-287
9. Rustin GJS, Nelstrop AE, Tuxen MK, Lambert HE. Defining progression of ovarian carcinoma during follow-up according to CA 125: A North Thames Ovary Group study. *Ann Oncol* 1996; **7**: 361-364
10. Sproston ARM, Roberts SA, Davidson SE, Hunter RD, West CML. Serum tumour markers in carcinoma of the uterine cervix and outcome following radiotherapy. *Br J Cancer* 1995; **72**: 1536-1540
11. Zeimet AG, Daxenbichler G, Müller-Holzner E, Dapunt O, Marth C. Tumor marker CA-125 in tissues of the female reproductive tract and in serum during the normal menstrual cycle. *Fertil Steril* 1993; **59** (5): 1028-1035
12. Klug TL, Bast RC, Nilloff JM, Knapp RC, Zurawski VR. Monoclonal antibody immunoradiometric assay for an antigenic determinant (CA 125) associated with human epithelial ovarian carcinomas. *Cancer Res* 1984; **44**: 1084-53

SYMBOLS USED WITH DEVICES

	English	Français	Deutsch	Español	Italiano
	European Conformity	Conformité aux normes européennes	CE – Konformitätskennzeichnung	Conformidad europea	Conformità europea
	Expiration Date	Date limite d'utilisation	Mindesthaltbarkeitsdatum	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Manufacturer	Fabricant	Hersteller	Fabricante	Fabbricante
	Consult Instructions for Use	Consulter les instructions d'utilisation	Gebrauchsanweisung beachten	Consulte las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso
IVD	In vitro diagnostic.	Diagnostic in vitro.	In-vitro-Diagnostikum.	Diagnóstico in vitro.	Diagnostica in vitro.
LOT	Lot No.	No. de lot	Chargen-Nr.	Número de lote	Lotto n°
	Temperature limitation.	Limitation de température.	Temperaturbereich	Limitación de temperatura	Limite della temperatura
CAL	Calibrator	Étalon	Kalibrator	Calibrador	Calibratore
CONTROL	Control serum	Sérum de contrôle	Kontrollserum	Suero de control	Siero di controllo
Ab ¹²⁵ I	Tracer: antibody labelled with ¹²⁵ I	Traceur : anticorps marqué à l'iode ¹²⁵	Tracer: ¹²⁵ I-markierter Antikörper	Trazador: anticuerpo etiquetado con ¹²⁵ I	Tracciatore: anticorpo etichettato con ¹²⁵ I
DIL SPE	Sample diluent	Diluant d'échantillon	Proben-Diluent	Diluyente de muestras	Diluyente campione
RCNS X mL	Reconstitute with X mL	Reconstituer avec X mL	Mit X mL auflösen	Reconstitución con X mL	Ricostituire con X mL
BUF	Buffer	Tampon	Puffer	Tampón	Tampone
SORB	Solid phase Coated tubes	Phase solide Tubes enduits	Festphase Beschichtete Teströhrchen	Fase sólida Tubos recubiertos	Fase solida Cannule con rivestimento.
	Radioactive	Radioactif	Radioaktiv	Radioactivo	Radioattivo

SYMBOLS USED WITH DEVICES CONTINUED ON NEXT PAGE.

CONTINUED FROM PREVIOUS PAGE - SYMBOLS USED WITH DEVICES

	Magyar	Czech	Ελληνικά
	European Conformity	Evropská shoda	Ευρωπαϊκή Συμμόρφωση
	Lejáratí ido	Datum expirace	Ημερομηνία Λήξης
	Gyártó	Výrobce	Κατασκευαστής
	Felhasználói utmutató	Srovnějte s návodem pro použití	Συμβουλευτείτε τις Οδηγίες Χρήσης
IVD	In vitro diagnosztika	In vitro diagnostika	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν.
LOT	Lot-szám	Číslo šarže	Αρ. παρτίδας
	Homérséklet tartomány	Teplotní omezení	Περιορισμοί θερμοκρασίας
CAL	Kalibrátor	Kalibrátor	Βαθμονομητής
CONTROL	Kontroll	Kontrolní sérum	Ορός μάρτυρα
Ab ¹²⁵ I	Tracer: ¹²⁵ I-el jelolt antitest	Protílátka značená ¹²⁵ I	Ιχνηθέτης: Αντίσωμα σημασμένο με ¹²⁵ I
DIL SPE	Minta hígító	Diluent vzorku	Αραιωτικό δείγματος
RCNS X mL	Feloldani X mL	Rozpusťte v X ml	Ανασύσταση με X mL
BUF	Puffer	Pufř	Ρυθμιστικό διάλυμα
SORB	Szilárd fázis, bevonatos csó	Zkumavky potažené pevnou fází	Στερεή φάση Επικαλυμμένοι δοκιμαστικοί σωλήνες
	Radioaktiv	Radioaktivita	Επιβλαβής

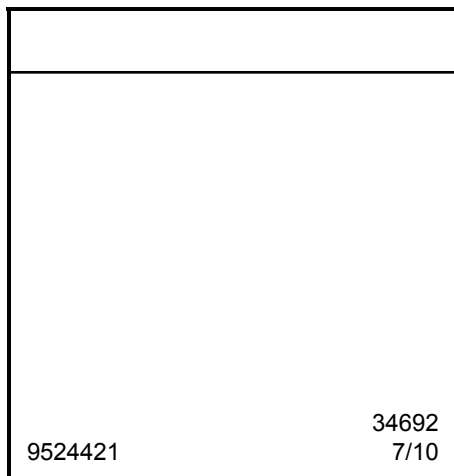


DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue
P.O. Box 285
Stillwater, MN 55082-0285



DiaSorin S.p.A.,
13040 Saluggia (VC) Italy

Phone: 651-439-9710
FAX: 651-351-5669



9524421

34692
7/10

PRINTED IN U.S.A.

