

CA 19-9™
¹²⁵I IRMA Kit

For the quantitative determination of
CA 19-9 in serum

Instruction Manual

Manuel d'Instructions

Testanleitung

Manual de Instrucciones

Manuale di Istruzioni

Felhasználói utasítás

Návod k použití

Εγχειρίδιο οδηγιών

REF: R0055

DiaSorin

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

TABLE OF CONTENTS

English	Page 1
Français	7
Deutsch	13
Español	19
Italiano.....	25
Magyar	31
Česky	37
Ελληνικά.....	43

CA 19-9 IRMA
REF R0055 50 tests

Instructions for Use
English

IVD **For professional use only!**

Intended Use

In vitro test for the quantitative determination of the CA 19-9™ antigen (1116NS — 19-9 defined antigen) in human serum during the follow-up of patients with gastrointestinal tumours.

Summary and Explanation of the Test

The monoclonal antibody 1116NS-19-9 (6) recognizes the epitope sialyl-lacto-N-fucopentose II, which is related in biochemical terms to the Lewis^a blood group antigen. This epitope was found in tumours both on glycolipids and mucin-like glycoproteins.

CA 19-9 assay levels are elevated in patients with pancreatic tumours or with hepatic, gastric and colorectal tumours and are suitable for follow-up and therapeutic monitoring (1, 2, 5, 7, 8, 9).

Principles of the Procedure

Immunoradiometric assay based upon the “sandwich principle”. The same highly specific monoclonal antibody 1116NS-19-9 is used for the coating of the solid phase (coated tube) and the tracer.

During the first incubation, the CA 19-9 present in patient samples and calibrators is bound to 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 19-9 already bound.

After removal of excess tracer by a second washing step, the radioactivity bound at the tube wall is measured in a gamma scintillation counter.

CONTENTS Material Provided

Determinations	50
¹²⁵ I-anti-CA 19-9, monoclonal (mouse), red radioactive content (kBq / µCi)	17 mL < 129/3.5
6 calibrators A-F (1.0 mL) in human serum albumin	1 set
Assay buffer, blue	12 mL
Diluent (0 U/mL) in human serum albumin	6 mL
Test tubes, coated with anti-CA 19-9, monoclonal (mouse)	50
Control, human, lyophilic	1 mL

CA 19-9™ is a trademark of Fujirebio Diagnostics Inc.

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 analyzer 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 10.1 μ Ci (372 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 lyophilized 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. Disturbances due to plasma are not known.
- Storage at 2–8°C: 24 hours
- To store for longer periods freeze 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, haemoglobin < 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.
- This testing kit must not be used after the expiry date printed on the package label.
- Observe the quality control guidelines for medical laboratories.
- Avoid microbial contamination of the reagents.

Test Procedure

It is recommended that calibrators and samples are double determined.

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

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

1. Pipette 200 µL assay buffer in all tubes.
2. Pipette 100 µL of calibrator, control or patient sample into the bottom of a coated tube, mix (vortex) and cover with plastic foil.
3. Incubate the tubes for 3 hours (± 5 min) at room temperature (18–25°C) on a horizontal shaker.*
4. Aspirate the liquid.
5. Wash all tubes 2 times with 2 mL purified water.

6. Add 300 μL ^{125}I -anti-CA 19-9 and cover with plastic foil.
7. Incubate the tubes for 2 hours (\pm 5 min) at room temperature (18–25°C) on a horizontal shaker.*
8. Aspirate the liquid.
9. Wash all tubes 2 times with 2 mL purified water.
10. Measure radioactivity (CPM) in all tubes (at least 1 min.).

200 μL	Pipette assay buffer
100 μL	Pipette calibrator, control or patient sample into the bottom of a test tube
	Mix
3 hrs (\pm 5 min)	Incubate at room temperature (18–25°C) on a shaker*
	Aspirate
2 x 2 mL	Wash with purified water
300 μL	Add ^{125}I -anti-CA 19-9
	Mix
2 hrs (\pm 5 min)	Incubate at room temperature (18–25 °C) on a shaker*
	Aspirate
2 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

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 ($\%B/B_{\text{max}}$) for each calibrator.
3. On semi-log paper, plot the relative binding of each calibrator ($\%B/B_{\text{max}}$) on the Y-axis versus the corresponding concentrations on the X-axis.
4. Sample concentrations (U/mL) can be read directly off the calibrator curve from their corresponding relative binding ($\%B/B_{\text{max}}$).

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 radio-immunological 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

In sera from 29 evidently healthy blood donors CA 19-9 values of up to approx. 24 U/mL were found. In patients (n=95) with various benign diseases (pancreatitis, infections of the gastrointestinal tract) CA 19-9 levels up to 37 U/mL were normally observed. Since CA 19-9 values may vary depending on the laboratory method used, each laboratory should establish its own reference range.

Limitations of the Procedure

Tumour patients may exhibit CA 19-9 assay values below the cut-off.

CA 19-9 levels above the cut-off are observed in patients with cystic fibrosis and severe benign liver disorders (3, 4).

Therefore, the CA 19-9 assay value must only be interpreted in conjunction with the clinical picture and other diagnostic procedures. In patients who are Lewis^a negative the CA 19-9 antigen cannot be detected either.

HAMA

Patient samples containing human anti-mouse antibodies (HAMA) may in principle lead to falsely elevated or decreased values. HAMA-neutralising 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 19-9 IRMA.

Analytical Data

Calibration

The CA 19-9 IRMA has been calibrated using the Fujirebio CA 19-9 assay.

Measuring range

The measuring range is 3 - 240 U/mL.

High-dose hook

No high-dose hook effect was observed for concentrations up to 30,000 U/mL.

Precision

Intra-assay variation			Inter-assay variation		
Mean value (U/mL)	CV (%)	n=	Mean value (U/mL)	CV (%)	n=
15.7	6.3	9	12.3	9.4	14
31.4	4.9	9	41.3	2.7	17
61.2	3.1	9	57.1	5.8	17
122.1	2.1	9	116.4	3.5	17

Analytical sensitivity

The lower detection limit is < 3.0 U CA 19-9/mL. This detection limit is defined as a value exceeding the zero standard by three standard deviations; it is the lowest CA 19-9 concentration that can be differentiated from zero with statistical significance.

Specificity

No cross-reactivities with mitomycin-C, doxorubicin, fluorouracil or methotrexate in therapeutic ranges were found.

Linearity upon Dilution

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

Original concentration: 103.8 U/mL

Dilution	Measured value (U/mL)	Expected value (U/mL)	Recovery (%)
1 : 2	51.4	51.8	99.2
1 : 4	27.8	26.7	104.1
1 : 8	13.6	14.1	96.2
1 : 16	7.7	7.9	97.6

Recovery

A patient serum with low CA 19-9 content was spiked with different concentrations of CA 19-9.

Original concentration: 7.4 U/mL

Measured value (U/mL)	Expected value (U/mL)	Recovery (%)
78.6	78.8	99.7
43.0	42.8	100.6
25.5	24.8	102.9
15.0	15.7	95.1

CA 19-9 IRMA
REF R0055 50 tests

Mode d'emploi
Français

IVD

Pour usage professionnel uniquement!

Indication

Test *in vitro* pour la détermination quantitative de l'antigène CA 19-9™ (antigène défini 1116NS – 19-9) dans le sérum humain dans le cadre du suivi des patients atteints de tumeurs gastro-intestinales.

Résumé et explication du test

L'anticorps monoclonal 1116NS-19-9 (6) reconnaît l'épitope sialyl-lacto-N-fucopentose II, lequel est biochimiquement apparenté à l'antigène de groupe sanguin Lewis^x. Cet épitope a été observé dans des tumeurs, à la fois sur des glycolipides et sur des glycoprotéines analogues à la mucine.

On retrouve des valeurs élevées pour le dosage CA 19-9 chez les patients atteints de tumeurs pancréatiques ou de tumeurs hépatiques, gastriques et colorectales et ce dosage est utile pour le suivi et l'évaluation thérapeutique (1, 2, 5, 7, 8, 9).

Principes de la procédure

Dosage radio-immunométrique basé sur le « principe du sandwich ». Le même anticorps monoclonal hautement spécifique 1116NS-19-9 est utilisé pour l'enrobage de la phase solide (tube enduit) et pour le traceur.

Au cours de la première incubation, le CA 19-9 présent dans les échantillons des patients 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 19-9 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.

CONTENU Matériel fourni

Déterminations	50
¹²⁵ I-anti-CA 19-9, monoclonal (souris), rouge	17 mL
Teneur en radioactivité (kBq / µCi)	< 129/3,5
6 étalons A-F (1,0 mL) dans de la sérumalbumine humaine	1 trousse
Tampon de dosage, bleu	12 mL
Diluant (0 U/mL) dans la sérumalbumine humaine	6 mL
Tubes de test, enduits d'anti-CA 19-9, monoclonal (souris)	50
Contrôle, humain, lyophilisé	1 mL

CA19-9™ est un nom déposé de Fujirebio Diagnostics Inc.

Matériel requis mais non fourni

- Micropipettes (100 µL, 200 µL, 300 µL, 1000 µL) 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 10,1 µCi (372 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. Les perturbations dues au plasma ne sont pas connues.

- 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.

- Ne pas utiliser cette trousse de dosage au-delà de la date de péremption figurant sur l'étiquette.

- Respecter les directives de contrôle de 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.

1. Pipeter 200 µL de tampon de dosage dans tous les tubes.
2. Pipeter 100 µL d'étalon, de contrôle ou d'échantillon de patient dans le fond d'un tube à essai enduit, mélanger (agitateur-mélangeur Vortex) et couvrir d'une feuille de plastique.

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 2 fois avec 2 mL d'eau purifié.
6. Ajouter 300 μ L de 125 I-anti-CA 19-9 et couvrir d'une feuille de plastique.
7. Incuber les tubes pendant 2 heures (\pm 5 min) à température ambiante (18–25°C) sur un mélangeur horizontal.*
8. Aspirer le liquide.
9. Laver tous les tubes 2 fois avec 2 mL d'eau purifié.
10. Mesurer la radioactivité (CPM) de tous tubes (pendant au moins 1 minute).

200 μ L	Pipeter le tampon de dosage
100 μ L	Pipeter l'étalon, le contrôle ou l'échantillon de patient dans le fond d'un tube à essai
	Mélanger
3 heures (\pm 5 min)	Incuber à température ambiante (18–25°C) sur un mélangeur* Aspirer
2 x 2 mL	Laver avec de l'eau purifiée
300 μ L	Ajouter le 125 I-anti-CA 19-9
	Mélanger
2 heures (\pm 5 min)	Incuber à température ambiante (18–25°C) sur un mélangeur* Aspirer
2 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

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

Les sérums de 29 donneurs de sang manifestement en bonne santé ont fourni des valeurs de CA 19-9 pouvant atteindre jusqu'à 24 U/mL. Chez des patients (n=95) atteints de diverses pathologies bénignes (pancréatite, infections du tractus gastro-intestinal), on observe normalement des taux de CA 19-9™ allant jusqu'à 37 U/mL. Comme les valeurs de CA 19-9 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 patients atteints de tumeurs peuvent présenter des valeurs du dosage CA 19-9 inférieures au seuil.

On peut observer des valeurs de CA 19-9 supérieures au seuil chez des patients atteints de mucoviscidose et de pathologies hépatiques bénigne sévères (3, 4).

Par conséquent, les résultats du dosage CA 19-9 doivent impérativement être interprétés en association avec le tableau clinique et avec d'autres procédures diagnostiques. Par ailleurs, chez les patients Lewis^a négatifs, il n'est pas possible de détecter l'antigène CA 19-9.

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 19-9 IRMA.

Données analytiques

Étalonnage

La trousse CA 19-9 IRMA a été étalonnée au moyen du dosage CA 19-9 de Fujirebio.

Plage de mesure

La plage de mesure est de 3 à 240 U/mL.

Infléchissement pour des doses élevées

Aucun effet d'infléchissement pour des doses élevées n'a été observé pour des concentrations allant jusqu'à 30.000 U/mL.

Précision

Variation intra-essai			Variation entre les essais		
Valeur moyenne (U/mL)	CV (%)	n=	Valeur moyenne (U/mL)	CV (%)	n=
15,7	6,3	9	12,3	9,4	14
31,4	4,9	9	41,3	2,7	17
61,2	3,1	9	57,1	5,8	17
122,1	2,1	9	116,4	3,5	17

Sensibilité analytique

La limite inférieure de détection est < 3,0 U de CA 19-9/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 19-9 pouvant être distinguée de zéro de manière statistiquement significative.

Spécificité

Interférences avec des médicaments

Aucune réactivité croisée n'a été observée avec la mitomycine C, la doxorubicine, le fluorouracile ou le méthotrexate 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 : 103,8 U/mL

Dilution	Valeur mesurée (U/mL)	Valeur escomptée (U/mL)	Récupération (%)
1 : 2	51,4	51,8	99,2
1 : 4	27,8	26,7	104,1
1 : 8	13,6	14,1	96,2
1 : 16	7,7	7,9	97,6

Récupération

Un sérum de patient avec une faible teneur en CA 19-9 a été dopé avec différentes concentrations de CA 19-9.

Concentration originale : 7,4 U/mL

Valeur mesurée (U/mL)	Valeur escomptée (U/mL)	Récupération (%)
78,6	78,8	99,7
43,0	42,8	100,6
25,5	24,8	102,9
15,0	15,7	95,1

IVD

Nur für professionellen Gebrauch!

Verwendungszweck

In-vitro -Test zur quantitativen Bestimmung des CA 19-9TM-Antigens (durch 1116NS -19-9 definiertes Antigen) in Humanserum während der Nachsorge bei Patienten mit gastrointestinalen Tumoren.

Zusammenfassung und Erläuterung des Tests

Der monoklonale Antikörper 1116NS-19-9 (6) erkennt das Epitop Sialyl-lacto-N-fucopentose II, das in biochemischer Hinsicht mit dem Lewis^a -Blutgruppenantigen zusammenhängt. Dieses Epitop wurde in Tumoren sowohl an Glykolipiden als auch an muzinähnlichen Glykoproteinen gefunden.

Die CA 19-9-Testkonzentrationen sind bei Patienten mit Pankreas-, Leber- oder Magentumoren sowie kolorektalen Tumoren erhöht und eignen sich für Nachsorge und therapeutische Überwachung (1, 2, 5, 7, 8, 9).

Verfahrensprinzipien

Immunoradiometrischer Assay auf der Grundlage des "Sandwich-Prinzips". Der erwähnte hoch spezifische monoklonale Antikörper 1116NS-19-9 wird für die Beschichtung der Festphase (beschichtetes Röhrchen) und für den Tracer verwendet.

Während der ersten Inkubation wird das in Patientenproben und Kalibratoren vorhandene CA 19-9 an 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 19-9.

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

INHALT Im Lieferumfang enthaltenes Material

Bestimmungen	50
¹²⁵ I-anti-CA 19-9 , monoklonal (Maus), rot	17 mL
Gehalt an Radioaktivität (kBq/μCi)	< 129/3,5
6 Kalibratoren A-F (1,0 mL) in humanem Serumalbumin	1 Satz
Testpuffer, blau	12 mL
Diluent (0 U/mL) in humanem Serumalbumin	6 mL
Teströhrchen, beschichtet mit anti-CA 19-9 , monoklonal (Maus)	50
Kontrolle, human, lyophil	1 mL

CA19-9TM ist ein Warenzeichen von Fujirebio Diagnostics Inc.

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 10,1 µCi (372 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. Störungen aufgrund von Plasma sind nicht bekannt.
- 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
- Dieses Testkit darf nach dem auf dem Packungsetikett angegebenen Verfallsdatum nicht verwendet werden
- Die Qualitätskontrollrichtlinien für medizinische Labors einhalten
- Mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden

Testverfahren

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

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

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

1. 200 µL Testpuffer in alle Röhrchen pipettieren.
2. 100 µL Kalibrator, Kontrolle bzw. Patientenprobe auf den Boden eines beschichteten Teströhrchens pipettieren, mischen (vortexen) und Röhrchen mit Kunststoffolie abdecken.
3. Die Röhrchen 3 Stunden (\pm 5 Min.) lang bei Raumtemperatur (18–25°C) auf einem horizontalen Schüttler inkubieren.*
4. Die Flüssigkeit aspirieren.
5. Alle Röhrchen zweimal mit 2 mL destilliertem Wasser spülen.
6. 300 µL 125 I-anti-CA 19-9 hinzugeben und Röhrchen mit Kunststoffolie abdecken.
7. Die Röhrchen 2 Stunden (\pm 5 Min.) lang bei Raumtemperatur (18–25°C) auf einem horizontalen Schüttler inkubieren.*
8. Die Flüssigkeit aspirieren.
9. Alle Röhrchen zweimal mit 2 mL destilliertem Wasser spülen.
10. Die Radioaktivität (CPM) in allen Röhrchen messen (mindestens 1 Min.).

200 µL	Testpuffer pipettieren
100 µL	Kalibrator, Kontrolle bzw. Patientenprobe auf den Boden eines Teströhrchens pipettieren
	Mischen
3 Std. (\pm 5 Min.)	Bei Raumtemperatur (18–25°C) auf einem Schüttler inkubieren*
	Aspirieren
2 x 2 mL	Mit destilliertem Wasser spülen
300 µL	125 I-anti-CA 19-9 hinzugeben
	Mischen
2 Std. (\pm 5 Min.)	Bei Raumtemperatur (18–25°C) auf einem Schüttler inkubieren*
	Aspirieren
2 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

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 auf der X-Achse auftragen.
4. Die Probenkonzentrationen (U/mL) können in der Eichkurve direkt aus den entsprechenden relativen Bindungen ($\%B/B_{max}$) 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

In Seren von 29 offensichtlich gesunden Blutspendern wurden CA 19-9 -Werte von bis zu ca. 24 U/mL gefunden. Bei Patienten (n=95) mit verschiedenen gutartigen Erkrankungen (Pankreatitis, Infektionen des Gastrointestinaltrakts) wurden in der Regel CA 19-9-Konzentrationen von bis zu 37 U/mL beobachtet. Da CA 19-9-Werte je nach dem angewendeten Laborverfahren unterschiedlich sein können, sollte jedes Labor seinen eigenen Referenzbereich festlegen.

Grenzen des Verfahrens

Tumorpatienten weisen möglicherweise CA 19-9-Testwerte unterhalb des kritischen Werts auf. CA 19-9-Konzentrationen oberhalb des kritischen Werts werden bei Patienten mit zystischer Fibrose und schweren gutartigen Lebererkrankungen beobachtet (3, 4).

Daher darf der CA 19-9-Testwert nur in Verbindung mit dem klinischen Bild und anderen diagnostischen Verfahren interpretiert werden. Bei Lewis^a -negativen Patienten kann das CA 19-9-Antigen ebenfalls nicht nachgewiesen 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 19-9 IRMA verwendet werden.

Analysedaten

Kalibrierung

Der CA 19-9 IRMA wurde anhand des CA 19-9-Assays von Fujirebio kalibriert.

Messbereich

Der Messbereich beträgt 3-240 U/mL.

High-dose-hook-Effekt

Für Konzentrationen von bis zu 30.000 U/mL wurde kein High-dose-hook-Effekt beobachtet.

Genauigkeit

Intra-Testvarianz			Inter-Testvarianz		
Mittelwert (U/mL)	VK (%)	n=	Mittelwert (U/mL)	VK (%)	n=
15,7	6,3	9	12,3	9,4	14
31,4	4,9	9	41,3	2,7	17
61,2	3,1	9	57,1	5,8	17
122,1	2,1	9	116,4	3,5	17

Analytische Sensitivität

Die untere Nachweisgrenze beträgt < 3,0 U CA 19-9/mL. Diese Nachweisgrenze ist als ein Wert definiert, der den Nullstandard um drei Standardabweichungen überschreitet; dies ist die niedrigste CA 19-9-Konzentration, die mit statistischer Bedeutung von Null unterschieden werden kann.

Spezifität

Es wurden keine Kreuzreaktivitäten mit Mitomycin-C, Doxorubicin, Fluorouracil oder Methotrexat 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: 103,8 U/mL

Verdünnung	Messwert (U/mL)	Erwartungswert (U/mL)	Wiederfindung (%)
1:2	51,4	51,8	99,2
1:4	27,8	26,7	104,1
1:8	13,6	14,1	96,2
1:16	7,7	7,9	97,6

Wiederfindung

Ein Patientenserum mit geringem CA 19-9-Gehalt wurde mit verschiedenen Konzentrationen von CA 19-9 versetzt.

Ursprüngliche Konzentration: 7,4 U/mL

Messwert (U/mL)	Erwartungswert (U/mL)	Wiederfindung (%)
78,6	78,8	99,7
43,0	42,8	100,6
25,5	24,8	102,9
15,0	15,7	95,1

IVD

Sólo para uso profesional

Indicaciones

Prueba *in vitro* para la determinación cuantitativa del antígeno CA 19-9™ (antígeno definido 1116NS —19-9) en suero humano durante el seguimiento de pacientes con tumor gastrointestinal.

Resumen y explicación del ensayo

El anticuerpo monoclonal 1116NS-19-9 (6) reconoce el epitopo sialil-lacto-N-fucopentosa II que, en términos bioquímicos, está relacionado con el antígeno de grupo sanguíneo Lewis^a. Se ha encontrado presencia de epitopo tanto en tumores glicolipídicos como en glicoproteínas de tipo mucina.

Los niveles de ensayo de CA 19-9 son elevados en pacientes con tumor pancreático, gástrico y colorrectal y resultan muy adecuados para monitorizar el control y seguimiento terapéuticos (1, 2, 5, 7, 8, 9).

Principios del procedimiento

Ensayo inmunoradiométrico basado en el "principio de sandwich". Se ha utilizado el mismo anticuerpo monoclonal específico 1116NS-19-9 para el recubrimiento de la fase sólida (tubo recubierto) y el trazador.

Durante la primera incubación, el CA 19-9 presente en las muestras de paciente y en los calibradores queda unido al 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 19-9 que ya está unido.

Tras retirar el trazador de exceso con un segundo paso de lavado, la radiactividad unida a la pared del tubo se mide con un contador de centelleo de rayos gamma.

CONTENIDO Material suministrado

Determinaciones	50
¹²⁵ I-anti-CA 19-9 , monoclonal (ratón), rojo	17 mL
contenido radiactivo (kBq / μCi)	< 129/3,5
6 calibradores A-F (1,0 mL) en albúmina de suero humano	1 juego
Tampón de ensayo, azul	12 mL
Diluyente (0 U/mL) en albúmina de suero humano	6 mL
Tubos de ensayo, recubiertos de anti-CA 19-9 , monoclonal (ratón)	50
Control, humano, liofilico	1 mL

CA19-9™ es marca comercial de Fujirebio Diagnostics Inc.

Material necesario pero no suministrado

- Micropipetas (100 µL, 200 µL, 300 µL, 1000 µL) 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 10,1 µCi (372 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 n° CDC-22, publicado por Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976.

Preparación de los reactivos

Antes de utilizar los componentes del ensayo, deje que alcancen la temperatura ambiente (18–25°C) 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. No se conocen alteraciones debidas al plasma.

- Almacenamiento a 2–8°C: 24 horas

- Para periodos de almacenamiento más prolongados, congele 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, ictéricos 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.

- Este equipo de ensayo no debe utilizarse después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del paquete.

- 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 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.

1. Dosifique 200 µL de tampón de ensayo en todos los tubos.
2. Dosifique 100 µL de calibrador, control o muestra de paciente en el fondo de un tubo recubierto, mezcle (en un mezclador vórtex) y cubra con una lámina de plástico.
3. Incube los tubos durante 3 horas (\pm 5 min) a temperatura ambiente (18–25°C) en un agitador horizontal.*
4. Aspire el líquido.
5. Lave todos los tubos 2 veces con 2 mL de agua purificada.
6. Agregue 300 µL de ^{125}I -anti-CA 19-9 y cubra con una lámina de plástico.
7. Incube los tubos durante 2 horas (\pm 5 min) a temperatura ambiente (18–25°C) en un agitador horizontal.*
8. Aspire el líquido.
9. Lave todos los tubos 2 veces con 2 mL de agua purificada.
10. Mida la radiactividad (CPM) de todos los tubos (durante 1 minuto como mínimo).

200 µL	Dosifique con pipeta tampón de ensayo
100 µL	Dosifique con pipeta el calibrador, control o muestra de paciente en el fondo de un tubo de ensayo
	Mezcle
3 horas (\pm 5 min)	Incube a temperatura ambiente (18–25°C) en un agitador*
	Aspire
2 x 2 mL	Lave con agua purificada
300 µL	Agregue ^{125}I -anti-CA 19-9
	Mezcle
2 horas (\pm 5 min)	Incube a temperatura ambiente (18–25°C) en un agitador
	Aspire
2 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

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 ($B_{\text{máx}}$) y multiplique por 100 para obtener el porcentaje de unión relativa ($\% B/B_{\text{máx}}$) de cada calibrador.
3. En un papel milimetrado semilogarítmico, trace las uniones relativas de cada calibrador ($\% B/B_{\text{máx}}$) 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 ($\% B/B_{\text{máx}}$).

Si la reactividad medida es superior a la del calibrador más alto, las 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.

Este 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

En sueros procedentes de 29 donantes evidentemente sanos, los valores de CA 19-9 encontrados fueron de 24 U/mL aproximadamente. En pacientes (n = 95) con diversas dolencias benignas (pancreatitis, infecciones del tracto gastrointestinal) los niveles de CA 19-9 observados normalmente llegan hasta 37 U/mL. Dado que los valores de CA 19-9 pueden variar en función del método de laboratorio utilizado, cada laboratorio debe establecer su propio rango de referencia.

Limitaciones del procedimiento

Los pacientes con tumor pueden mostrar valores de ensayo de CA 19-9 por debajo del punto de corte.

Se han observado niveles de CA 19-9 por encima del punto de corte en pacientes con fibrosis quística y desórdenes benignos graves de hígado (3, 4).

Por lo tanto, los valores de CA 19-9 en ensayos sólo deben interpretarse junto con la imagen clínica y otros procedimientos de diagnóstico. La detección de antígeno CA 19-9 no ha sido posible en pacientes con Lewis^a negativo.

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. Las muestras no deberán utilizarse con el CA 19-9 IRMA .

Datos analíticos

Calibración

Para calibrar el CA 19-9 IRMA se ha utilizado el método de ensayo para CA 19-9 de Fujirebio.

Rango de medición

El rango de medición es de 3 - 240 U/mL.

Efecto de gancho a concentraciones altas

No se ha observado efecto de gancho para concentraciones de hasta 30.000 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=
15,7	6,3	9	12,3	9,4	14
31,4	4,9	9	41,3	2,7	17
61,2	3,1	9	57,1	5,8	17
122,1	2,1	9	116,4	3,5	17

Sensibilidad analítica

El límite de detección más bajo es de < 3,0 U CA 19-9/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 19-9 más baja que puede distinguirse de cero con importancia estadística.

Especificidad

No se han encontrado interferencias cruzadas con mitomicina-C, doxorubicina, fluoruracil o metotrezato en los rangos terapéuticos indicados.

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: 103,8 U/mL

Dilución	Valor medido (U/mL)	Valor previsto (U/mL)	Recuperación (%)
1 : 2	51,4	51,8	99,2
1 : 4	27,8	26,7	104,1
1 : 8	13,6	14,1	96,2
1 : 16	7,7	7,9	97,6

Recuperación

El suero de paciente con bajo contenido de CA 19-9 se inyectó con distintas concentraciones de CA 19-9.

Concentración original: 7,4 U/mL

Valor medido (U/mL)	Valor previsto (U/mL)	Recuperación (%)
78,6	78,8	99,7
43,0	42,8	100,6
25,5	24,8	102,9
15,0	15,7	95,1

IVD

Esclusivamente per uso professionale!

Uso previsto

Test *in vitro* per la determinazione quantitativa dell'antigene CA 19-9™ (antigene 1116NS - 19-9 definito) nel siero umano per controlli clinici di routine di pazienti affetti da tumori gastrointestinali.

Sommario e spiegazione del test

L'anticorpo monoclonale 1116NS-19-9 (6) riconosce l'epitopo sialil-latto-N-fucopentose II, che in termini biochimici è correlato all'antigene Lewis^a. L'epitopo è stato trovato in tumori su glicolipidi e glicoproteine di tipo mucine.

I livelli CA 19-9 risultano elevati in pazienti affetti da tumori pancreatici o con tumore epatico, gastrico e del colon-retto e la loro determinazione è utile per il follow-up e il monitoraggio terapeutico (1, 2, 5, 7, 8, 9).

Principi della procedura

Analisi immunoradiometrica basata sul "principio sandwich". L'anticorpo monoclonale altamente specifico 1116NS-19-9 viene impiegato sia per il rivestimento della fase solida (provetta rivestita) sia per il tracciante.

Durante la prima incubazione, il CA 19-9 presente nel campione e nei calibratori viene fissato all'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 19-9 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.

CONTENUTO Materiale fornito

Determinazioni	50
¹²⁵ I-anti-CA 19-9 , monoclonale (topo), rosso	17 mL
contenuto radioattivo (kBq / μCi)	< 129/3,5
6 calibratori A-F (1,0 mL) in sieroalbumine umane	1 serie
Buffer per analisi, blu	12 mL
Diluyente (0 U/mL) in sieroalbumine umane	6 mL
Provette, rivestite con anti-CA 19-9, monoclonale (topo)	50
Controlli, umani, liofilati	1 mL

CA19-9™ è un marchio della Fujirebio Diagnostics Inc.

Materiale necessario, non fornito in dotazione

- Micropipette (100 µL, 200 µL, 300 µL, 1000 µL) 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 10,1 µCi (372 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. Non sono state riferite alterazioni dovute al plasma.
- 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.
- Questo kit non deve essere usato dopo la data di scadenza stampata sull'etichetta.
- 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 alla concentrazione del calibratore maggiore, i campioni dovranno essere ulteriormente diluiti con il diluente (ad esempio, a fattori 10, 100, 1000).

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

1. Iniettare con pipetta 200 µL di buffer per analisi in tutte le provette.
2. Iniettare con pipetta 100 µL di calibratore, controllo o campione paziente sul fondo di una provetta rivestita, mescolare (con vortex) e coprire con pellicola.
3. Lasciare le provette in incubazione per 3 ore (\pm 5 min) a temperatura ambiente (18–25°C) su un agitatore orizzontale.*
4. Aspirare il liquido.
5. Lavare tutte le provette due volte con 2 mL di acqua purificata.

6. Aggiungere 300 µL di ¹²⁵I-anti-CA 19-9 e coprire con pellicola.
7. Lasciare le provette in incubazione per 2 ore (± 5 min) a temperatura ambiente (18-25°C) su un agitatore orizzontale.*
8. Aspirare il liquido.
9. Lavare tutte le provette due volte con 2 mL di acqua purificata.
10. Misurare la radioattività (CPM) in tutte le provette (per almeno 1 minuto).

200 µL	Iniettare con pipetta il buffer per analisi
100 µL	Iniettare con pipetta il calibratore, il controllo o il campione paziente sul fondo di una provetta
	Mescolare
3 ore (± 5 min)	Lasciare in incubazione a temperatura ambiente (18–25°C) su un agitatore*
	Aspirare
2 x 2 mL	Lavare con acqua purificata
300 µL	Aggiungere ¹²⁵ I-anti-CA 19-9
	Mescolare
2 ore (± 5 min)	Lasciare in incubazione a temperatura ambiente (18–25°C) su un agitatore*
	Aspirare
2 x 2 mL	Lavare con acqua purificata
1 minuto	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

Calcolo dei risultati

È possibile stabilire manualmente la curva di calibrazione nel modo seguente:

1. Stabilire il CPM medio di 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 sull'asse X.
4. Leggere direttamente le concentrazioni (U/mL) sulla curva di calibrazione in base al corrispondente legame relativo (%B/B_{max}).

Se la radioattività misurata è maggiore rispetto al calibratore superiore, i campioni dovranno essere diluiti con il diluente e analizzati nuovamente. Con 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 verificate 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

Nei sieri di 29 donatori apparentemente sani sono stati rilevati valori di CA 19-9 fino a circa 24 U/mL. In pazienti (n=95) con varie malattie benigne (pancreatite, infezioni del tratto gastrointestinale), sono stati normalmente osservati livelli di CA 19-9 fino a 37 U/mL. Poiché i valori di CA 19-9 possono variare in base alle metodiche di laboratorio adottate, ogni laboratorio dovrà stabilire range di riferimento propri.

Limiti della procedura

Pazienti affetti da tumore possono presentare valori di CA 19-9 sotto il cut-off.

Livelli di CA 19-9 superiori al cut-off sono stati osservati in pazienti affetti da fibrosi cistica e disturbi gravi al fegato di natura benigna (3, 4).

Pertanto, il valore di CA 19-9 deve essere interpretato esclusivamente unitamente al quadro clinico e ad altre procedure diagnostiche. In pazienti Lewis^a negativi, non è possibile rilevare l'antigene CA 19-9.

HAMA

Campioni di pazienti contenenti anticorpi anti-topo (HAMA) possono in teoria portare a 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 analisi CA 19-9 IRMA.

Dati analitici

Calibrazione

Il test CA 19-9 IRMA è stato calibrato in base al dosaggio Fujirebio CA 19-9.

Range di misurazione

Il range di misurazione è compreso fra 3 - 240 U/mL.

Effetto gancio

Nessun effetto gancio è stato osservato con concentrazioni fino a 30.000 U/mL.

Precisione

Variazione intra-analisi			Variazione inter-analisi		
Valore medio (U/mL)	CV (%)	n=	Valore medio (U/mL)	CV (%)	n=
15,7	6,3	9	12,3	9,4	14
31,4	4,9	9	41,3	2,7	17
61,2	3,1	9	57,1	5,8	17
122,1	2,1	9	116,4	3,5	17

Sensibilità analitica

Il limite minimo di rilevazione è < 3,0 U CA 19-9/mL. Questo limite di rilevazione è definito come valore superiore allo zero in base a tre deviazioni standard; è la concentrazione minima di CA 19-9 che si differenzia da zero con significato statistico.

Specificità

Non sono state rilevate reattività crociate con mitomicina C, doxorubicina, fluorouracile o metotressato nei range terapeutici.

Linearità della diluizione

Il siero di un paziente è stato diluito con diluente, quindi è stata eseguita la misurazione. I valori rilevati sono stati confrontati con i valori attesi ottenuti dalla regressione lineare.

Concentrazione originale: 103,8 U/mL

Diluizione	Valore misurato (U/mL)	Valore atteso (U/mL)	Recupero (%)
1 : 2	51,4	51,8	99,2
1 : 4	27,8	26,7	104,1
1 : 8	13,6	14,1	96,2
1 : 16	7,7	7,9	97,6

Recupero

In un siero con basso contenuto di CA 19-9 sono state aggiunte concentrazioni diverse di CA 19-9.

Concentrazione originale: 7,4 U/mL

Valore misurato (U/mL)	Valore atteso (U/mL)	Recupero (%)
78,6	78,8	99,7
43,0	42,8	100,6
25,5	24,8	102,9
15,0	15,7	95,1

IVD

Kizárólag szakmai használatra!

Felhasználói terület

In vitro teszt CA 19-9™ antigén (1116NS – 19-9 meghatározott antigén) kvantitatív meghatározásához human szérumból a betegek gasztrointestinalis tumorainak nyomonkövetésére.

A teszt áttekintése és magyarázata

A monoklonális 1116NS-19-9 (6) antitest egy szialil-lakto-N-fukopentoz II epitopot ismer fel, mely a Lewis^a vércsoport antigének közé tartozik. Ez az epitop megtalálható a tumorokon mind a glikolipiden, mind a mucin szeru glikoproteineken.

CA 19-9 assay szint emelkedik pankreasz, máj, gyomor és colorektális tumorban és alkalmas a terápia monitorozására. (1, 2, 5, 7, 8, 9).

A meghatározás elve

“Szendvics elv”-en alapulo immunoradiometrikus assay. A teszt nagy affinitásu monoklonális antitestet, 1116NS-19-9-t tartalmaz szilárd fázishoz kotve (bevonatos cso) és a tracerben.

Az elso inkubáció alatt a beteg mintákban és kalibrátorokban jelenlévo CA 19-9 kotodik a teszt csovek falán kotott antitestekhez. A meg nem kotott anyagok eltávolítása mosási lépéssel történik. A második inkubáció alatt a tracerben lévo antitestek reagálnak a már megkotott CA 19-9-el.

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

A készlet tartalma

Meghatározások száma	50
¹²⁵ I-anti-CA 19-9, monoklonális (egér), piros radioaktivitás (kBq / μCi)	17 mL < 129/3.5
6 kalibrátor A-F (1.0 mL) humán szérum albuminban	1 készlet
Assay puffer, kék	12 mL
Higito (0 U/mL) humán szérum albuminban	6 mL
Teszt csovek, anti-CA 19-9 bevonattal, monoklonális (egér)	50
Kontroll, humán, liofilizált	1 mL

A CA 19-9™ a Fujirebio Diagnostics Inc. védjegye.

Meghatározáshoz szükséges egyéb anyagok

- Mikropipetták (100 µL, 200 µL, 300 µL, 1000 µL) 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 10.1 µCi (372 kBq) értéket. Helyes előkészítés 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 lóttyan ki fel kell torolni, majd alkáli detergensekkel, 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 ólom 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 előkészítése

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

(Elkerülve a hab képződést.)

A kontrollt ovatosan kell kinyitni és feloldani 1.0 mL desztillált vízben. **(Elkerülve a hab képződést.)** Gyozodjon meg rola, hogy az uvegcese falára kitapadt liofilizált anyag is feloldodott.

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 kozvetlen fénytól.**

Mintavétel, mintatípus és tárolás

- Standard eljárásnak megfelelo mintavételt igényel.

- Mintatípus: szérum. Plazma zavaro hatása nem ismert.

- Tárolás 2–8°C-on: 24 ora.

- Hosszabb tároláshoz fagyassza –20°C alá.

- A fagyasztott minta csak egyszer olvashthato az eredmények befolyásolása nélkül.

- 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 koncentrácioban nem okoz interferenciát az eredményben.

Modszer leírás

- A kulonbozo készletek egyes komponenseinek osszemérése nagy korultekintést igényel. Kulonbozo LOT számu komponensek keverése, osszecserélése a mérés pontosságának bizonytalanságához vezet.

- Ragaszkodjon a megadott pipettázási sorrendhez.

- A gamma számláló mérési idejét legkevesebb 1 percre kell beállítani.

- Tartsa szem előtt a diagnosztikai laboratoriumok minoségbiztosítási irányelveit.

- Ovja a reagenseket a mikrobiális szennyezodésektol.

Teszt protokoll

Javasolt a kalibrátorok és a minták dublikátumban történó mérése.

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

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

1. Pipettázzon 200 µL assay puffer-t minden csobe.
2. Pipettázzon hozzá 100 µL kalibrátort, kontrollt, vagy beteg mintát bevonatos csovekbe, keverje össze (vortex) és fedje le parafilmmel.
3. Inkubálja a csoveket 3 órát (± 5 min) szobahomérsékleten (18–25°C) horizontális rázon.*
4. Szivja le a folyadékot.
5. Mosson minden csövet 2x2 mL desztillált vízzel.
6. Mérjen hozzá 300 µL ¹²⁵I-anti-CA 19-9-t és fedje le parafilmmel.
7. Inkubálja a csoveket 2 órát (± 5 perc) szobahomérsékleten (18–25°C) horizontális rázon.*
8. Szivja le a folyadékot.
9. Mosson minden csövet 2x2 mL desztillált vízzel.
10. Mérje le a radioaktivitást (CPM) minden csoben (legalább 1 perc).

200 µL	Assay puffer pipettázása
100 µL	Kalibrátor, kontroll, páciens minta pipettázása teszt csövek aljára
	Keverés
3 ora (± 5 perc)	Inkubálás szobahomérosékleten (18–25°C) rázatással*
	Leszívás
2 x 2 mL	Mosás desztillált vízzel
300 µL	¹²⁵ I-anti-CA 19-9 hozzá mérése
	Keverés
2 hrs (± 5 min)	Inkubálás szobahomérosékleten (18–25°C) rázatással*
	Leszívás
2 x 2 mL	Mosás desztillált vízzel
1 min	Mérés (szcintillációs gamma számláló)

* **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. Számolja ki valamennyi cso duplikátum 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 relative beépülési százalékát ($\%B/B_{max}$).
3. Semi-log papíron, ábrázolja a relativ beépülési százalékokat ($\%B/B_{max}$) az Y-tengelyen a hozzátartozó koncentrációk függvényében (X-tengely).
4. Olvassa le a minták koncentrációját (U/mL) a kalibrációs görbéről a megfelelő relativ beépülési százalék alapján ($\%B/B_{max}$).

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

Készülékkel történő immunoassay kiértékelésénél spline illesztést kell alkalmazni.

Minőségbiztosítás

Tartsa szem előtt a diagnosztikai laboratóriumokra vonatkozó minőségbiztosítási alapelveket.

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

A kontrollt minden futtatásnál egyidejűleg mérni kell, ezek a kontrollok ugy 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 értékelése

Látszólag egészséges donorok (n=29) CA 19-9 értéke 24 U/mL alatti értéket adott. Benignus betegségekben (pankreatitis, gastrointesztinális traktus infekció) szenvedo páciensek (n=95) CA 19-9 szintje 37 U/mL alattinak adódott. Mivel a CA 19-9 érték laboratóriumi metodika-fuggo, ezért javasolt a saját referencia tartomány felállítása.

Az eljárás korlátai

Tumoros betegek CA 19-9 assay értéke cut-off alatti lehet.

Cut-off feletti CA 19-9 szint figyelhető meg cisztikus fibrozisban és különböző benignus máj elváltozásokban (3, 4).

Ezért a CA 19-9 eredmények csak a klinikai képpel és más diagnosztikai eredményekkel összefüggésben értelmezhetőek. A Lewis^a negatív betegeknél a CA 19-9 antigén sem mérhető.

HAMA

A beteg minták human anti-egér antitesteket tartalmaznak (HAMA), mely fals emelkedést, vagy csökkenést eredményezhet. Bár HAMA-neutralizáló ágens kerül hozzáadásra, extrém magas HAMA szérumszint ritkán befolyásolhatja az eredményt. Ezekhez a mintákhoz nem használható a CA 19-9 IRMA assay.

Analitikai adatok

Kalibráció

A teszt hitelesítéséhez a Fujirebio IRMA CA 19-9[®] assay-t használták.

Mérési tartomány

A mérési tartomány 3 - 240 U/mL között van.

High-dose hook

High-dose hook effektus nem figyelhető meg 30,000 U/mL koncentráció tartományig.

Precízió

Intra-assay variáció			Inter-assay variáció		
Átlag érték (U/mL)	CV (%)	n=	Átlag érték (U/mL)	CV (%)	n=
15.7	6.3	9	12.3	9.4	14
31.4	4.9	9	41.3	2.7	17
61.2	3.1	9	57.1	5.8	17
122.1	2.1	9	116.4	3.5	17

Analitikai szenzitivitás

Az alsó detektálási határ < 3.0 U CA 19-9/mL. Ez a detektálási határ 3 SD-vel haladja meg a zéró standard értéket; ez a legkisebb koncentráció, amelynek a zéró standardtól való eltérése már statisztikailag szignifikáns.

Specifitás

Nincs keresztreakció mitomycin-C-vel, doxorubicin-nal, fluorouracil-lal, vagy methotrexattal terápiás koncentráció tartományban.

Hígítási linearitás

Beteg minták kerültek hígításra és mérésre. A mért és várt értékek lineáris regresszióval kerültek összevetésre.

Eredeti koncentráció: 103,8 U/mL.

Hígítás	Mért érték (U/mL)	Várt érték (U/mL)	Visszanyerés (%)
1 : 2	51.4	51.8	99.2
1 : 4	27.8	26.7	104.1
1 : 8	13.6	14.1	96.2
1 : 16	7.7	7.9	97.6

Visszanyerés

Alacsony CA 19-9 tartalmu mintákhoz kulonbozo mennyiségu CA 19-9 került hozzáadásra és lemérésre.

Eredeti kocentráció: 7,4 U/mL.

Mért érték (U/mL)	Várt érték (U/mL)	Visszanyerés (%)
78.6	78.8	99.7
43.0	42.8	100.6
25.5	24.8	102.9
15.0	15.7	95.1

CA 19-9 IRMA

REF R0055 50 stanovení

Návod k použití
Česky

IVD

Pouze pro laboratorní použití

Použití soupravy

IRMA-mat[®] CA 19-9[™] je *in vitro* souprava pro kvantitativní stanovení antigenu CA 19-9 (1116NS – 19-9 definovaný antigen) v rámci sledování pacientů s gastrointestinálními tumory.

Úvod

Monoklonální protilátka 1116NS 19-9 (6) reaguje s epitopem sialyl-lakto-N-fukopentózy II, oligosacharidem blízké příbuzným antigenu Lewis^a. Lakto-N-fukopentóza II byla identifikována v tumorech jako součást glykolipidů, stejně jako v séru pacientů s maligním onemocněním, kde je patrně součástí glykoproteinu mucinového typu.

Hladiny CA 19-9 jsou zvýšené u pacientů s tumory pankreasu nebo u pacientů s tumory jater, žaludku a kolorektálními tumory a toto vyšetření je tedy vhodné pro další sledování a monitoring terapie (1, 2, 5, 7, 8, 9).

Princip metodiky

IRMA-mat[®] CA 19-9[™] je imunoradiometrické stanovení založené na „sendvičovém“ principu. Stejná vysoce specifická monoklonální protilátka je použita pro potažení pevné fáze (potažené zkumavky) a pro radiodikátor.

Během první inkubace se antigen CA 19-9 přítomný ve vzorcích a 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 19-9.

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

Reagencie

Počet stanovení:	50
Monoklonální (myší) protilátka anti-CA 19-9 značená ¹²⁵ I (¹²⁵ I-anti-CA 19-9) barvená červeně, 17 ml	17 ml
aktivita (kBq / μCi):	< 129/3,5
6 standardů A-F (<i>Calibrators A-F</i>) (1,0 ml) v lidském sérovém albuminu	1 sada
Pufr pro stanovení (<i>Assay buffer</i>), barvený modře:	12 ml
Diluent (<i>Diluent</i>) (0 U/ml), lidský sérový albumin:	6 ml
Zkumavky potažené monoklonální (myší) protilátkou proti CA 19-9 (<i>Test tubes</i>):	50
Kontrolní sérum (<i>Control</i>), lidské, lyofilizát	1 ml

CA 19-9[™] je obchodní název firmy Fujirebio Diagnostics Inc.

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
- Alternativně vhodný automatický analyzátor
- Nepotažené polystyrenové zkumavky pro naředění séra a kontrol
- Destilovaná nebo deionizovaná voda (v dalším textu označovaná jako destilovaná voda)

Reagencie obsahující ¹²⁵I

Tato souprava obsahuje radioaktivní materiál, jehož aktivita nepřesahuje 372 kBq (10,1 µCi) ¹²⁵I. Během zacházení s radioaktivními materiály a při jejich likvidaci je nutné řídit se 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 nejezte, 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 reagensí

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

Lahvičku obsahující lyofilizovanou kontrolu nutno otevírat opatrně (vakuum) a rekonstituovat 1 ml destilované vody. **(Zamezte vzniku pěny).** Zajistěte, aby se rozpustil také lyofilizovaný materiál přichycený na uzávěr.

Skladování reagensí

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

Veškeré ostatní reagensie 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; ani při použití plazmy nejsou známy problémy se stanovením.
- 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

Procedural Notes

- 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.
- Tento kit se nesmí používat po datu expirace uvedeném na obalu balení.
- Dodržujte pokyny pro kontrolu kvality v klinických laboratořích.
- Zamezte mikrobiální kontaminaci reagensí.

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).

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

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

1. Na dno odpovídající potahované zkumavky napipetujte 200 μ l pufru pro stanovení.
2. Přidejte vždy 100 μ l standardu, kontroly nebo vzorku, promíchejte (vortex) a uzavřete plastickou folií.
3. Inkubujte 3 hodiny (\pm 5 minut) při laboratorní teplotě (18 až 25 °C) na horizontální třepačce*.
4. Odsajte kapalinu.
5. Každou zkumavku promyjte 2 x 2 ml destilované vody.
6. Přidejte 300 μ l 125 I-anti-CA 19-9 a promíchejte, uzavřete plastovou folií.
7. Inkubujte zkumavky 2 hodiny (\pm 5 minut) hodin při laboratorní teplotě (18 až 25 °C) na třepačce.
8. Odsajte kapalinu.
9. Každou zkumavku promyjte 2 x 2 ml destilované vody.
10. Ve všech zkumavkách změřte radioaktivitu (cpm), doba měření min. 1 minuta.

Schéma pracovního postupu

200 μ l	Napipetujte pufr pro stanovení
100 μ l	Přidejte standard, kontrolu nebo vzorek Promíchejte
3 hrs (\pm 5 min)	Inkubujte při laboratorní teplotě (18 až 25 °C) na třepačce* Odsajte
2 x 2 ml	Promyjte destilovanou vodou
300 μ l	Přidejte 125 I-anti-CA 19-9, míchejte Promíchejte
2 h (\pm 5 min)	Inkubujte při laboratorní teplotě (18-25 °C) na třepačce* Odsajte
2 x 2 ml	Promyjte destilovanou vodou
1 min	Změřte (gama-čítač)

* Podmínky třepání udržujte konstantní!

Optimum:

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

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

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

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 ($\%B/B_{max}$) pro každý standard.
3. Na semilogaritmickém papíru vynesete relativní vazbu každého standardu na osu Y proti odpovídajícím koncentracím na ose X.
4. Koncentrace vzorků (U/ml) odečtete přímo z kalibrační křivky podle odpovídající hodnoty relativní vazby ($\%B/B_{max}$).

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.

Kontrolakvality

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 jedné 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

Séra vzorku 29 zdravých dárců krve vykazují hodnoty CA 19-9 až do přibližně 24 U/ml. U pacientů (n=95) s různými chorobami benigního charakteru (pankreatitida, infekce gastrointestinálního traktu atd.) jsou zjišťovány hodnoty CA 19-9 ve výši až 37 U/ml

Ke kompenzaci rozdílů metodik a rozdílů mezi laboratořemi se doporučuje, aby si každá laboratoř stanovila své vlastní referenční rozmezí.

Omezení metodiky

Pacienti s karcinomem mohou vykazovat hodnoty CA 19-9 v normálním rozmezí. U pacientů s cystickou fibrózou, cirhózou jater a jinými těžkými jaterními chorobami se pozoruje zvýšení hladin CA 19-9 přesahující 37 U/ml (3, 4).

Samotné stanovení CA 19-9 není dostačující pro vyhledávání tumoru a primární diagnózu nebo vyloučení malignit. Hodnoty CA 19-9 musejí být interpretovány ve spojitosti s klinickými nálezy a jinými diagnostickými postupy. Pacienti negativní na antigen Lewis^a nevykazují antigen CA 19-9

HAMA

Vzorky pacientů obsahující lidské protilátky proti myším protilátkám (HAMA) mohou vykazovat falešně zvýšené nebo snížené hodnoty. Ačkoliv se k testovacím reagensům přidávají látky neutralizující HAMA, mohou extrémně vysoké sérové koncentrace HAMA zapříčinit nesprávnost výsledků. Tyto vzorky se nesmějí pro stanovení CA 19-9 IRMA použít.

Analytické parametry soupravy

Kalibrace

Souprava byla kalibrována za použití soupravy Fujirebio IRMA CA 19-9.

Rozsah měření

Souprava IRMA-mat[®] CA 19-9[®] umožňuje měření koncentrací mezi 3 a 240 U/ml.

High-dose hook

Při hladinách CA 19-9 do hodnoty 30.000 U/ml nebyl uvedený jev pozorován.

Přesnost

Intra-assay			Inter-assay		
Mean (U/ml)	CV (%)	n =	Mean (U/ml)	CV (%)	n =
15,7	6,3	9	12.3	9,4	14
31,4	4,9	9	41.3	2,7	17
61,2	3,1	9	57.1	5,8	17
122,1	2,1	9	116.4	3,5	17

Analytická přesnost

Detekční limit soupravy IRMA-mat[®] CA 19-9[™] je nižší než 3,0 U CA 19-9/ml. Tento limit je definován jako hodnota lišící se od nulového standardu o 3 směrodatné odchylky, je to nejnižší koncentrace CA 19-9, kterou lze rozlišit se statistickou významností od nuly.

Specifická

IRMA-mat.[®] CA 19-9[™] nevykazuje žádné zkřížené reakce s mitomycinem-C, doxorubicinem, fluorouracilem nebo methotrexátem v terapeutických dávkách.

Linearita při ředění

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

Původní koncentrace: 103,8 U/ml.

Ředění	Změřená hodnota (U/ml)	Očekávaná hodnota (U/ml)	Recovery (%)
1 : 2	51,4	51,8	99,2
1 : 4	27,8	26,7	104,1
1 : 8	13,6	14,1	96,2
1 : 16	7,7	7,9	97,6

Recovery

Ke vzorku s nízkou koncentrací CA 19-9 byla přidána různá množství CA 19-9.

Původní koncentrace: 7,4 U/ml.

Změřená hodnota (U/mL)	Očekávaná hodnota (U/mL)	Recovery (%)
78,6	78,8	99,7
43,0	42,8	100,6
25,5	24,8	102,9
15,0	15,7	95,1



Μόνο για χρήση από επαγγελματίες!

Χρήση για την οποία προορίζεται

Εξέταση *in vitro* για τον ποσοτικό προσδιορισμό των αντιγόνων CA 19-9™ (1116NS-19-9 ορισμένο αντιγόνο) σε ανθρώπινο ορό κατά την παρακολούθηση ασθενών με γαστρεντερικά νεοπλάσματα.

Περίληψη και ερμηνεία της δοκιμής

Το μονοκλωνικό αντίσωμα 1116NS-19-9 (6) αναγνωρίζει το επίτοπο σιαλυλ-λακτο-N-φουκοπεντόζη II, το οποίο σχετίζεται με βιοχημικούς όρους με το αντιγόνο ομάδας αίματος Lewis^a. Το επίτοπο αυτό βρέθηκε σε νεοπλάσματα τόσο σε γλυκολιπίδια όσο και σε γλυκοπρωτεΐνες που μοιάζουν στις βλεννίνες.

Τα επίπεδα προσδιορισμού CA 19-9 είναι αυξημένα σε ασθενείς με παγκρεατικά νεοπλάσματα ή ηπατικά, γαστρικά και ορθοκολικά νεοπλάσματα και είναι κατάλληλα για την παρακολούθηση και το θεραπευτικό έλεγχο (1, 2, 5, 7, 8, 9).

Αρχές της διαδικασίας

Αποτελεί ανοσοραδιομετρικό προσδιορισμό που βασίζεται στην αρχή του "σάντουιτς". Το ίδιο μονοκλωνικό αντίσωμα υψηλής ειδικότητας 1116NS-19-9 χρησιμοποιείται για την επικάλυψη της στερεής φάσης (επικαλυμμένος δοκιμαστικός σωλήνας) και ως ιχνηθέτης.

Κατά την πρώτη επώαση, το CA 19-9 που υπάρχει στα δείγματα ασθενών και στους βαθμονομητές δεσμεύεται στο 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 19-9 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.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ Υλικά που παρέχονται

Προσδιορισμοί	50
¹²⁵ I-anti-CA 19-9, μονοκλωνικό (ποντικού), ερυθρό περιεχόμενο ραδιενέργειας (kBq / μCi)	17 mL < 129/3,5
6 βαθμονομητές A έως F (1,0 mL) σε λευκωματίνη ανθρώπινου ορού	1 σετ
Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού, κυανό	12 mL
Αραιωτικό (0 U/mL) σε λευκωματίνη ανθρώπινου ορού	6 mL
Δοκιμαστικοί σωλήνες, επικαλυμμένοι με anti-CA 19-9, μονοκλωνικό (ποντικού)	50
Υλικό ελέγχου, ανθρώπινο, λυοφιλιώμενο	1 mL

CA19-9™ είναι εμπορικό σήμα κατατεθέν της Fujirebio Diagnostics Inc.

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 αραίωση του ορού και των υλικών ελέγχου
- Κεκαθαρισμένο νερό

Αντιδραστήρια που περιέχουν ιώδιο 125

Το κιτ αυτό περιέχει ραδιενεργό υλικό το οποίο δεν υπερβαίνει τα 10,1 µCi (372 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, κτηνίατρος 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 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 κιτ.

Αντιδραστήρια που περιέχουν αζίδιο του νατρίου

ΠΡΟΣΟΧΗ: Μερικά αντιδραστήρια στο κιτ 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 κεκαθαμένου 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. Δεν είναι γνωστές οι διαταραχές λόγω του πλάσματος.
- Φυλάσσετε 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 αναμιγνύεται καλά τα αποθηκευμένα δείγματα πριν από τη χρήση (σε όργανο περιδίνησης).
- Μη χρησιμοποιείτε ορό με συγκολλήσεις ή λιπαιμικό, αιμολυτικό, 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.
- Αυτό το kit εξέτασης δεν θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα της συσκευασίας.
- 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 βαθμονομητή με την υψηλότερη συγκέντρωση, θα πρέπει να αραιώσετε τα δείγματα περαιτέρω με το αραιωτικό (π.χ. παράγοντες 10, 100, 1000).

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

1. Τοποθετήστε με πιπέτα 200 μL ρυθμιστικού διαλύματος προσδιορισμού σε όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες.
2. Τοποθετήστε με πιπέτα 100 μL βαθμονομητή, υλικό ελέγχου ή δείγμα ασθενή στο κάτω μέρος ενός επικαλυμμένου δοκιμαστικού σωλήνα, αναμίξτε (όργανο περιδίνησης) και καλύψτε με πλαστική μεμβράνη.

3. Επλώστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες για 3 ώρες (\pm 5 λεπτά) σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 25°C) σε οριζόντιο αναδευτήρα.*
4. Αναρροφήστε το υγρό.
5. Πλύνετε όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες 2 φορές με 2 mL κεκαθαμένου νερού.
6. Προσθέστε 300 μ L 125 I-anti-CA 19-9 και καλύψτε με πλαστική μεμβράνη.
7. Επλώστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες για 2 ώρες (\pm 5 λεπτά) σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 25°C) σε οριζόντιο αναδευτήρα.*
8. Αναρροφήστε το υγρό.
9. Πλύνετε όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες 2 φορές με 2 mL κεκαθαμένου νερού.
10. Μετρήστε τη ραδιενέργεια (CPM) σε όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες (1 τουλάχιστον λεπτό).

200 μ L	Τοποθετήστε με πιπέτα ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού
100 μ L	Τοποθετήστε με πιπέτα το βαθμονομητή, το υλικό ελέγχου ή το δείγμα ασθενή στο κάτω μέρος ενός δοκιμαστικού σωλήνα.
	Ανάμιξη
3 ώρες (\pm 5 λεπτά)	Επλώστε σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 25°C) σε αναδευτήρα*
	Αναρρόφηση
2 x 2 mL	Πλύνετε με κεκαθαμένο νερό.
300 μ L	Προσθέστε 125 I-anti-CA 19-9
	Ανάμιξη
2 ώρες (\pm 5 λεπτά)	Επλώστε σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 25°C) σε αναδευτήρα*
	Αναρρόφηση
2 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.

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_{max}) για κάθε βαθμονομητή.
3. Σε ημιλογαριθμικό χαρτί, σχεδιάστε τις σχετικές δεσμεύσεις για κάθε βαθμονομητή (%B/ B_{max}) στον άξονα Y συναρτήσει των αντίστοιχων συγκεντρώσεων 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_{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 αραιώσεως.

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 kit 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

Σε ορό από 29 φαινομενικά υγιείς αιμοδότες, βρέθηκαν τιμές CA 19-9 έως περίπου 24 U/mL. Σε ασθενείς (n=95) με διάφορες καλοήθειες νόσους (παγκρεατίτιδα, λοιμώξεις της γαστρεντερικής οδού), συνήθως παρατηρήθηκαν επίπεδα CA 19-9 έως 37 U/mL. Επειδή οι τιμές CA 19-9 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 νεοπλάσματα ενδεχομένως να παρουσιάζουν τιμές προσδιορισμού CA 19-9 που είναι χαμηλότερες από την τιμή αποκλεισμού.

Παρατηρήθηκαν τιμές CA 19-9 πάνω από την τιμή αποκλεισμού σε ασθενείς με κυστική ίνωση και καλοήθειες ηπατικές διαταραχές σοβαρής μορφής (3, 4).

Επομένως, η ερμηνεία των τιμών προσδιορισμού CA 19-9 πρέπει να γίνει μόνο σε συνδυασμό με άλλα κλινικά ευρήματα και διαγνωστικές διαδικασίες. Σε ασθενείς που είναι Lewis^a αρνητικοί, το αντιγόνο CA 19-9 δεν μπορεί να ανιχνευτεί.

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 19-9 IRMA.

Αναλυτικά δεδομένα

Βαθμονόμηση

Το CA 19-9 IRMA έχει βαθμονομηθεί με χρήση του προσδιορισμού Fujirebio CA 19-9.

Περιοχή τιμών μέτρησης

Η περιοχή τιμών μέτρησης είναι 3 έως 240 U/mL.

Φαινόμενο «άγκιστρου» υψηλής δόσης

Δεν παρατηρήθηκε φαινόμενο «άγκιστρου» υψηλής δόσης για συγκεντρώσεις έως 30.000 U/mL.

Ακρίβεια

Διακύμανση στον ίδιο προσδιορισμό			Διακύμανση μεταξύ σειράς προσδιορισμών		
Μέση τιμή (U/mL)	ΣΔ (%)	n=	Μέση τιμή (U/mL)	ΣΔ (%)	n=
15,7	6,3	9	12,3	9,4	14
31,4	4,9	9	41,3	2,7	17
61,2	3,1	9	57,1	5,8	17
122,1	2,1	9	116,4	3,5	17

Αναλυτική ευαισθησία

Το κατώτερο όριο ανίχνευσης είναι < 3,0 U CA 19-9/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 19-9 που μπορεί να διαφοροποιηθεί από το μηδέν με στατιστική σημασία.

Ειδικότητα

Δεν βρέθηκε διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με μιτομυκίνη-C, δοξορουβικίνη, φθοριοουρακίλη ή μεθοτρεξάτη σε θεραπευτικές περιοχές τιμών.

Γραμμικότητα κατά την αραίωση

Αραιώθηκε ορός ασθενή με αραιωτικό και κατόπιν μετρήθηκε. Οι μετρούμενες τιμές συγκρίθηκαν με τις αναμενόμενες τιμές που λήφθηκαν από γραμμική παλινδρόμηση.

Αρχική συγκέντρωση: 103,8 U/mL

Αραίωση	Μετρούμενη τιμή (U/mL)	Αναμενόμενη τιμή (U/mL)	Ανάκτηση (%)
1 : 2	51,4	51,8	99,2
1 : 4	27,8	26,7	104,1
1 : 8	13,6	14,1	96,2
1 : 16	7,7	7,9	97,6

Ανάκτηση

Ορός ασθενή με χαμηλή συγκέντρωση CA 19-9 μολύνθηκε με διαφορετικές συγκεντρώσεις CA 19-9.










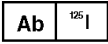
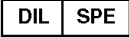
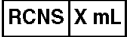



Αρχική συγκέντρωση: 7,4 U/mL

Μετρούμενη τιμή (U/mL)	Αναμενόμενη τιμή (U/mL)	Ανάκτηση (%)
78,6	78,8	99,7
43,0	42,8	100,6
25,5	24,8	102,9
15,0	15,7	95,1

**References – Bibliografía – Références – References – Bibliografía – Irodalom –
Odkazy – Βιβλιογραφία**







1. Bartoloni C, Guidi L, Baroni R, Tricceri A, Barone C, Garufi C, Gambassi G. Longitudinal Study of CA 19-9 and CEA in Gastrointestinal Cancer Patients at Different Stages. *J Tumor Marker Oncol* 1990; **5** (4): 351-362
2. Diez M, Cerdán FJ, Pollán M, Maestro ML, Ortega MD, Martínez S, Moreno G, Balibrea JL. Prognostic Significance of Preoperative Serum CA 19.9 Assay in Patients with Colorectal Carcinoma. *Anticancer Res* 1994; **14**: 2819-2826
3. Encabo G, Ruibal A. Seric CA 19.9 levels in patients with non tumoral pathologies. Our experience in 892 cases. *Bull Cancer (Paris)* 1986; **73** (3): 256-259
4. Fabris C, Falleti E, Pirisi M, Soardo G, Toniutto P, Vitulli D, Bortolotti N, Gonano F, Bartoli E. Non-specific increase of serum carbohydrate antigen 19-9 in patients with liver disease associated with increased circulating levels of adhesion molecules. *Clinica Chimica Acta* 1995; **243**: 25-33
5. Gattani AM, Mandeli J, Bruckner HW. Tumor Markers in Patients with Pancreatic Carcinoma. *Cancer* 1996; **78**: 57-62
6. Koprowski H, Steplewski Z, Mitchell K, Herlyn M, Herlyn D, Fuhrer P. Colorectal Carcinoma Antigens Detected by Hybridoma Antibodies. *Somatic Cell Genetics*, 1979; **5** (6): 957-972
7. Malesci A, Montorsi M, Mariani A, Santambrogio R, Bonato C, Bissi O, Tacconi M, Wizemann G, Spina G. Clinical Utility of the Serum CA 19-9 Test for Diagnosing Pancreatic Carcinoma in Symptomatic Patients: A Prospective Study. *Pancreas* 1992; **7** (4): 497-502
8. Satake K, Takeuchi T. Comparison of CA 19-9 with Other Tumor Markers in the Diagnosis of Cancer of the Pancreas. *Pancreas* 1994; **9** (6): 720-724
9. Willett CG, Daly WJ, Warshaw AL. CA 19-9 Is an Index of Response to Neoadjuvant Chemoradiation Therapy in Pancreatic Cancer. *Am J Surg* 1996; **172**: 350-352

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
	In vitro diagnostic.	Diagnostic in vitro.	In-vitro-Diagnostikum.	Diagnóstico in vitro.	Diagnostica in vitro.
	Lot No.	No. de lot	Chargen-Nr.	Número de lote	Lotto n°
	Temperature limitation.	Limitation de température.	Temperaturbereich	Limitación de temperatura	Limite della temperatura
	Calibrator	Étalon	Kalibrator	Calibrador	Calibratore
	Control serum	Sérum de contrôle	Kontrollserum	Suero de control	Siero di controllo
	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
	Sample diluent	Diluant d'échantillon	Proben-Diluent	Diluyente de muestras	Diluyente campione
	Reconstitute with X mL	Reconstituer avec X mL	Mit X mL auflösen	Reconstitución con X mL	Ricostituire con X mL
	Buffer	Tampon	Puffer	Tampón	Tampone
	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	Česky	Ελληνικά
	European Conformity	Evropská shoda	Ευρωπαϊκή Συμμόρφωση
	Lejáratási idő	Datum expirace	Ημερομηνία Λήξης
	Gyártó	Výrobce	Κατασκευαστής
	Felhasználói utmutató	Srovnejte 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
	Homéroséklet tartomány	Teplotní omezení	Περιορισμοί θερμοκρασίας
CAL	Kalibrátor	Kalibrátor	Βαθμονομητής
CONTROL	Kontroll	Kontrolní sérum	Ορός μάρτυρα
Ab ¹²⁵ I	Tracer: ¹²⁵ I-tel jelolt antitest	Protílátka značená ¹²⁵ I	Ιχνηθέτης: Αντίσωμα σημασμένο με ¹²⁵ I
DIL SPE	Minta hígító	Diluent vzorku	Αραιωτικό δείγματος
RCNS X mL	Felodani X mL	Rozpusťte v X ml	Ανασύσταση με X mL
BUF	Puffer	Pufř	Ρυθμιστικό διάλυμα
SORB	Szilárd fázis, bevonatos csó	Zkumavky potažené pěnou fází	Στερεή φάση επικαλυμμένοι δοκιμαστικοί σωλήνες
	Radioaktivitás	Radioaktivita	Επιβλαβής

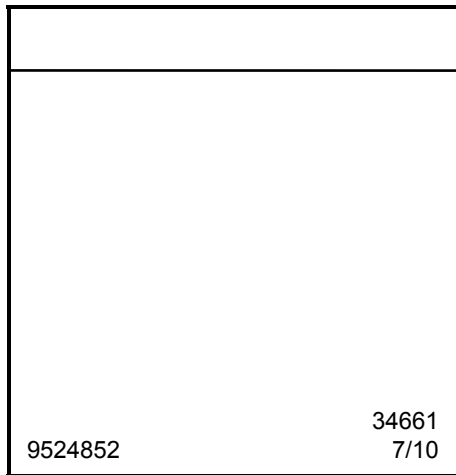


DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue
P.O. Box 285
Stillwater, MN 55082-0285



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

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



9524852

34661
7/10

PRINTED IN U.S.A.

