



DiaSorin Inc.
 1951 Northwestern Avenue, P.O. Box 285,
 Stillwater, MN 55082-0285 U.S.A.
 Phone: 651-439-9710 - Fax: 651-351-5669



IRMA-mat[®] AFP

Instructions for Use

REF 324.471

100 tests

English

IVD

For professional use only!

Intended Use

In vitro test for the quantitative determination of alpha fetoprotein (AFP) in human serum and amniotic fluid for pregnancy monitoring and during the follow-up of tumour patients. The assay performance characteristics have not been established for diagnosis of trisomy 21.

Summary and Explanation of the Test

Alpha fetoprotein is a macromolecular glycoprotein (with a molecular weight of approx. 68,000) consisting of a single polypeptide chain. AFP, which belongs to the group of oncofetal proteins, is produced by the yolk sac and in the foetal liver.

In oncology, AFP is determined in patients with liver-cell carcinoma (1, 5) or germ-cell tumours (non-seminomatous tumours of the testes; endodermal sinus tumour of the ovaries) (3, 6, 7) and in pregnancy monitoring (2, 4). During pregnancy, AFP levels in maternal blood continuously increase. After reaching a maximum between weeks 28 to 32 of gestation, the level again falls until delivery. In the amniotic fluid, the maximum is already achieved between the 13th and 15th week of gestation. Elevated AFP levels in early pregnancy indicate neural tube defects (spina bifida, anencephaly).

The determination of serum AFP during monitoring of therapy and the progression of patients with carcinoma provides valuable information about the success of treatment and whether recidivation occurs.

Principles of the Procedure

Two-site immunoradiometric assay (sandwich principle) using two highly specific monoclonal antibodies for coating of the solid phase (coated tubes) and the tracer. The tracer antibody and the coated antibody react simultaneously with the AFP present in patient samples or standards. Excess tracer is removed by a washing step and the radioactivity bound to the tube wall is measured in a gamma scintillation counter.

CONTENTS

Determinations	100
¹²⁵ I-anti-AFP, monoclonal (mouse), red	33 mL
radioactive content (kBq / μ Ci)	< 424 / 11.5
7 standards A-G (0.6 mL) in human serum albumin (The exact concentration is indicated on each vial label)	1 set
Diluent (0 IU/mL) in phosphate buffer (concentrate)	2 x 11 mL
Test tubes, coated with anti-AFP, monoclonal (mouse)	2 x 50
Control serum, human, lyophilic	0.6 mL
Quality control report	1

Material required but not provided

- Micropipettes (25 µL, 300 µL) with disposable plastic tips
- Vortex mixer
- Manual or automatic washer with aspiration device
- Horizontal shaker
- Gamma scintillation counter
- Alternatively, an appropriate automated analyser system, if available
- Uncoated polystyrene tubes for the dilution of sera and controls
- Purified water

Warnings and Precautions for Users

Reagents Containing Human Source Material

Treat as potentially infectious.

Each serum/plasma donor unit used in the preparation of this product has been tested by a U.S. FDA approved method and found non-reactive for the presence of HBsAg, antibody to HCV and antibody to HIV 1/2. While these methods are highly accurate, they do not guarantee that all infected units will be detected. This product may also contain other human source material for which there is no approved test. Because no known test method can offer complete assurance that hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV), Human Immunodeficiency Virus (HIV) or other infectious agents are absent, all products containing human source material should be handled in accordance with good laboratory practices using appropriate precautions as described in the U.S. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health Manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," 4th., May 1999 or current edition.

Reagents Containing Iodine-125

This kit contains radioactive material which does not exceed 11.5 µCi (424 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. (Avoid foam formation).

Open the control carefully and reconstitute with 0.6 mL of purified water. (Avoid foam formation). Make sure that lyophilised material adhering to the cap is also dissolved.

Dilute 20 mL of diluent concentrate with 100 mL of purified water.

Storage of Reagents

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

Store all reagents at 2–8°C until the expiry date printed on the package label.

- **Keep upright for storage.**

- **Keep away from direct light.**

Sample Collection and Storage

- Collect samples using standard procedures.

- Sample material: serum, amniotic fluid; disturbances with plasma are not known.

- Storage at 2 - 8°C: 24 h.

- For longer storage periods: freeze to below -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 samples which are agglutinated, lipemic, hemolysed, 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 single components of each kit are carefully matched. In case of exchange or mixture of any components from different lots the manufacturer does not guarantee reliable results. See bottom of the kit for the lot numbers of all components.

- Strictly adhere to the procedures.

- The measuring time at the gamma counter must be adjusted for counting at least 1 minute.

- This kit must not be used after the expiry date printed on the package label.

- Observe quality control guidelines for medical laboratories.

- Avoid microbial contamination of the reagents.

Test Procedure

It is recommended that standards and samples are assayed in duplicate.

If values above the highest standard are expected, samples should be diluted (e.g. by dilution factor 10, 100, 1000).

Amniotic fluid must always be diluted. During the diagnostically relevant weeks of pregnancy (between 16th and 19th week) 1:100 dilution is sufficient. In pathological cases a higher dilution may be necessary (parallel testing of 1:100 and 1:1000 dilutions).

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

1. Pipette 25 µL of standard, control or patient sample onto the bottom of a coated tube.
2. Add 300 µL ¹²⁵I-anti-AFP, mix (vortex mixer).
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 3 times with 2 mL of purified water.
6. Measure radioactivity (CPM) in all tubes (at least 1 min.)

25 µL	Pipette standard, control or patient sample onto the bottom of a coated tube.
300 µL	Add ¹²⁵ I-anti-AFP Mix
3 hrs (± 5 min)	Incubate at room temperature (18–25°C) on a shaker* Aspirate
3 x 2 mL	Wash with purified water
1 min	Measure (gamma scintillation counter)

*** Keep shaking conditions constant!**

Optimum:

Amplitude 20 mm = 150 rpm

Amplitude 10 mm = 220 rpm

Amplitude < 8 mm = 300 rpm

Calculation of Results

The standard 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 standard (B) by the mean CPM of the highest standard (B_{max}) and multiply by 100 in order to obtain the percentage of relative binding (%B/B_{max}) for each standard.
3. On semi-log paper, plot the relative binding of each standard (%B/B_{max}) on the Y-axis versus the corresponding concentrations (IU/mL) on the X-axis.
4. Sample concentrations (IU/mL) can be read directly off the standard curve from their corresponding relative binding (%B/B_{max}).

If the radioactivity measured is above that of the highest standard, 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. An example of a standard curve is given in the QC report. This curve must not be used for the calculation of unknown samples.

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 healthy men and non-pregnant women (n=63) AFP values do not rise above 6 IU/mL (95th percentile). Elevated levels point to neoplastic activity.

During pregnancy, the AFP concentrations in the maternal serum rise until they reach a maximum between the 28th and 32nd week of pregnancy. After week 32 a fall in values is observed.

AFP levels outside the reference range are indicative of fetal damage. Elevated AFP concentrations indicate a neural tube defect. The serum findings are verified by AFP determination in the amniotic fluid.

Based on healthy, pregnant women, the following values for serum and amniotic fluid** have been evaluated for the IRMA - mat[®] AFP assay:

Normal AFP values in early pregnancy

Week of gestation	AFP in maternal serum		AFP in amniotic fluid**	
	(Median IU/mL)	(n*)	(Median IU/mL)	(n*)
15	26.7	236	17,083	15
16	28.0	236	14,679	107
17	34.1	236	12,532	135
18	38.4	236	10,075	106
19	41.9	236	8,381	37
20	60.0	236	6,877	24

** Values for amniotic fluid have been evaluated with the LIAISON[®] AFP assay. As both assays use the same antibodies, the values determined using the LIAISON[®] AFP can be considered standard values.

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

Limitations of the Procedure

Patients with carcinomas may also exhibit AFP values within the normal range.

AFP concentrations may in comparison be elevated in the case of benign diseases such as cirrhosis of the liver, hepatitis or tyrosinaemia (8). For this reason AFP determination is most suitable for therapeutic monitoring or during follow-up and for confirmation of histological results. The AFP assay should not be used as the only criterion for tumour screening.

Since no data on the diagnosis of Down's syndrome has been ascertained with IRMA-mat[®] AFP, the assay is not recommended for use in triple screening.

All tests, in which antigen is incubated together with labelled antibodies and immobilised antibodies in a liquid phase, bear the risk that undiluted samples containing extremely high concentrations of the antigen, will give measuring values below those of the highest standard. In case of the IRMA-mat[®] AFP, this phenomenon is observed at concentrations exceeding 30,000 IU/mL. If such values are suspected, measurement should be repeated after further dilution (e.g. by factors 10, 100, 1000) of the specimen.

HAMA

Patient samples containing human anti-mouse antibodies (HAMA) may give falsely elevated or decreased values. Although HAMA-neutralising agents are added, extremely high HAMA serum concentrations may occasionally influence results. These samples should not be used for the IRMA-mat[®] AFP assay.

Analytical Data

Calibration

IRMA-mat® AFP has been calibrated using the Reference Standard MRC 72/225.

1ng AFP = 0.83 IU AFP (MRC 72/225)

1IU AFP (MRC 72/225) = 1.21 ng AFP

Measuring range

Measuring range is 2 - 600 IU/mL.

High-dose hook

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

Precision

Intra-assay Mean value (IU/mL)	CV (%)	n=	Inter-assay Mean value (IU/mL)	CV (%)	n=
19	2.6	11	11	6.9	11
99	2.8	11	106	4.5	11
338	1.8	11	170	4.2	11

Analytical sensitivity

The lower detection limit is < 2.0 IU AFP/mL. This detection limit is defined as a value exceeding the zero standard by three standard deviations; it is the lowest AFP concentration that can be differentiated from zero with statistical significance.

Specificity

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

Dilution

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

Original concentration: 457.5 IU/mL

Dilution	Measured value (IU/mL)	Expected value (IU/mL)	Recovery (%)
1 : 1.25	368	366	101
1 : 2.5	202	183	110
1 : 5	100	92	109
1 : 10	50	46	109

Recovery

A patient's serum with low AFP content was spiked with different amounts of AFP and then measured.

Original concentration: 3.4 IU/mL

Measured value (IU/mL)	Expected value (IU/mL)	Recovery (%)
253	252	100
197	202	97
154	153	101
52	53	98



DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue, P.O. Box 285,
Stillwater, MN 55082-0285 U.S.A.
Phone: 651-439-9710 - Fax: 651-351-5669



IRMA-mat[®] AFP

Istruzioni per l'uso

REF 324.471

100 dosaggi

Italiano

IVD

Solo per uso professionale!

Uso previsto

Test *in vitro* per la determinazione quantitativa dell'alfa-fetoproteina (AFP) nel siero umano e nel liquido amniotico durante il controllo della gravidanza e nella terapia postoperatoria di pazienti affetti da tumore. Le prestazioni metodologiche del kit non sono state definite nella diagnosi della trisomia 21.

Riepilogo e spiegazione del test

L'alfa-fetoproteina è una glicoproteina ad alto peso molecolare (circa 68.000), formata da una singola catena polipeptidica. L'AFP, appartenente al gruppo delle proteine oncofetali, viene sintetizzata dal sacco vitellino e dal fegato del feto.

La presenza di AFP si determina in oncologia, nei carcinomi epatici (1,5) e nei tumori delle cellule germinali (3,6,7) (tumori dei testicoli non seminomatosi, tumori del seno endodermico delle ovaie) e nel controllo della gravidanza (2,4). Nel corso della gravidanza i livelli dell'AFP nel sangue materno aumentano continuamente. Una volta raggiunto il picco massimo tra la 28a e la 32a settimana di gestazione, il valore tende a decrescere fino a raggiungere bassi valori alla nascita. Nel liquido amniotico il picco massimo viene raggiunto verso la 13a - 15a settimana di gestazione. Livelli sierici elevati di AFP all'inizio della gravidanza sono indicativi della presenza di difetti del tubo neurale (spina bifida, anencefalia).

Il dosaggio della AFP sierica nel controllo del decorso e della terapia di pazienti con carcinoma, fornisce utili indicazioni riguardo al successo del trattamento e alla comparsa di recidive.

Principio del dosaggio

Dosaggio immunoradiometrico, basato sul "principio sandwich". Per il rivestimento della fase solida (provetta sensibilizzata) e per il tracciante il test impiega due differenti anticorpi monoclonali altamente specifici.

L'anticorpo della fase solida e il tracciante reagiscono contemporaneamente con l'AFP presente in standard e campioni. Il materiale non legato è rimosso mediante una fase di lavaggio. Successivamente alla rimozione mediante lavaggio del tracciante libero, la radioattività legata alla parete della provetta viene misurata con un contatore gamma a scintillazione.

CONTENUTO

Numero di dosaggi	100
Anticorpi anti-AFP marcati con ¹²⁵ I (tracciante), monoclonale (topo), rosso	33 mL
Attività (kBq / µCi)	< 424 / 11.5
7 Standard A-G (0,6 mL) in sieroalbumina umana, (L'esatta concentrazione è riportata sull'etichetta di ogni flacone)	1 set
Diluyente (0 IU/mL) in tampone fosfato (concentrato)	2 x 11 mL
Provette per il saggio, sensibilizzate con anticorpi anti-AFP, monoclonali (topo)	2 x 50
Controllo, umano, liofilo.	0,6 mL
Report del controllo di qualità	1

Materiali richiesti ma non forniti

- Micropipette (25 µL, 300 µL) con puntali in plastica monouso
- Agitatore vortex
- Apparecchiatura manuale o automatica per il lavaggio con dispositivo di aspirazione
- Agitatore orizzontale
- Contatore gamma a scintillazione
- in alternativa un analizzatore di laboratorio automatico idoneo, se disponibile
- Provette in polistirene non sensibilizzate per la diluizione di sieri e controlli
- Acqua purificata

Avvertenze e precauzioni

Reagenti contenenti materiale di provenienza umana

Trattare come potenzialmente infettivi.

Ogni unità di siero/plasma da donatore usata nella preparazione di questo prodotto è stata testata con una metodica approvata dalla FDA statunitense e trovata non reattiva per la presenza di HBsAg, anticorpi ad HCV ed anticorpi ad HIV 1/2. Anche se questi metodi sono estremamente accurati, non è garantita la localizzazione di tutte le unità infette. Questo prodotto può inoltre contenere altro materiale di provenienza umana per il quale non esiste un test approvato. Poiché nessuna metodologia di test approvata può offrire garanzia completa sull'assenza del virus dell'epatite B (HBV), dell'epatite C (HCV), del virus di immunodeficienza (HIV) o di altri agenti infettivi, tutto il materiale di provenienza umana deve essere trattato in conformità con le buone pratiche di laboratorio adottando le precauzioni appropriate come descritto nei manuali dei Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health, "Biosafety in Micro-biological and Biomedical Laboratories," quarta edizione, Maggio 1999 o edizione corrente.

Reagenti contenenti iodio-125

Questo kit contiene materiale radioattivo che non supera 11.5 µCi (424 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 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 stampata sulle istruzioni allegate alla confezione può essere leggermente diversa dalla radioattività stampata sull'etichetta della scatola e sull'etichetta della fiala di tracciante. L'etichetta 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

ATTENZIONE: 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 reattivi

Portare a temperatura ambiente (18–25°C) e agitare bene i componenti del test prima del dosaggio (evitare la formazione di schiuma).

I controlli devono essere aperti con attenzione e ricostituiti con 0,6 mL di acqua purificata (evitare la formazione di schiuma). Verificare che venga sciolto anche il materiale liofilizzato aderente al tappo a vite.

Diluire 20 mL di diluente – concentrato con 100 mL di acqua purificata.

Conservazione dei reattivi

Conservare tutti i reattivi a 2–8°C. I reattivi sono stabili sino alla data di scadenza indicata sulla confezione.

- **Conservare i reattivi mantenendoli in posizione verticale**

- **Proteggere dalla luce diretta**

Raccolta e conservazione dei campioni

- La raccolta dei campioni deve essere effettuata utilizzando procedure standard.
- Utilizzare siero; non sono note interferenze da plasma.
- Conservazione a una temperatura di 2 - 8°C: 24 ore
- Per periodi di conservazione prolungati, congelare i campioni a -20°C.
- I risultati del test non sono compromessi da campioni sottoposti a un ciclo di congelamento e scongelamento.
- Se i campioni sono stati conservati, agitare bene prima dell'uso (su vortex).
- Non utilizzare sieri agglutinati, lipemici, emolizzati, itterici o contaminati.

Interferenze

Non sono state rilevate interferenze sui risultati del test con 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 stati selezionati e combinati con la massima attenzione. In caso di sostituzione o mescolanza di componenti di lotti differenti, il produttore non garantisce l'affidabilità dei risultati. I numeri dei lotti dei singoli componenti sono specificati sulla parte inferiore della confezione del kit.
- Rispettare la sequenza delle fasi della procedura di dispensazione indicate.
- Impostare il tempo di misurazione ad almeno 1 minuto.
- Non utilizzare questo kit dopo la data di scadenza indicata sulla confezione.
- Attenersi alle procedure del controllo di qualità usate nei laboratori medici.
- Evitare la contaminazione microbica dei reattivi.

Svolgimento del test

Si raccomanda di dosare in duplicato standard e campioni.

Se si ipotizzano valori superiori alla concentrazione dello standard più elevata, effettuare diluizione dei campioni (ad es. con fattore di diluizione 10, 100, 1000).

I campioni di liquido amniotico devono sempre essere diluiti; per la diluizione nelle settimane di gestazione fondamentali sotto il profilo diagnostico (16^a -19^a settimana) è sufficiente una diluizione 1:100 utilizzando il diluente contenuto nel kit. In casi patologici può essere richiesta una diluizione con fattore superiore (determinazioni parallele di diluizione 1:100 e 1:1000).

In alternativa all'esecuzione e alla valutazione manuale, sotto la responsabilità del laboratorio, è possibile utilizzare anche un analizzatore automatico di laboratorio adeguato.

1. Distribuire 25 µL di standard, controllo o campione del paziente sul fondo di una provetta sensibilizzata.
2. Aggiungere 300 µL di tracciante e agitare su vortex.
3. Incubare le provette per 3 ore (± 5 min) a temperatura ambiente (18–25°C) su agitatore orizzontale.*
4. Aspirare il liquido.
5. Lavare tutte le provette 3 volte con 2 mL di acqua purificata.
6. Misurare la radioattività (CPM) presente in tutte le provette (minimo 1 min).

Distribuire 25 µL	di standard, controllo o campione del paziente sul fondo di una provetta
Aggiungere 300 µL	di tracciante
Incubare per 3 h (± 5 min)	Agitare a temperatura ambiente (18–25°C), su agitatore*
Lavare 3 volte con 2 mL	Aspirare di acqua purificata.
Misurare 1 min	in contatore gamma a scintillazione

* **Mantenere costanti le condizioni di agitazione!**

Condizioni ottimali:

Ampiezza 20 mm = 150 rpm

Ampiezza 10 mm = 220 rpm

Ampiezza < 8 mm = 300 rpm

Calcolo dei risultati

La curva standard può venire tracciata manualmente come segue:

1. Determinare il valore di CPM medio per ogni coppia di provette (determinazioni in duplicato)
2. Dividere i CPM medi di ogni singolo standard (B) per il CPM medio dello standard più alto (B_{max}) e moltiplicare per 100 per ottenere la percentuale di legame relativo (%B/B_{max}) per ogni standard.
3. Riportare su carta semilogaritmica i legami relativi (%B/B_{max}) di ogni singolo standard in ordinata (asse Y) in funzione delle concentrazioni (IU/mL) corrispondenti poste in ascissa (asse X).
4. Leggere le concentrazioni dei campioni (IU/mL), direttamente sulla curva standard in base ai rispettivi legami relativi (%B/B_{max}).

In caso di campioni con radioattività misurata superiore a quella dello standard più elevata, diluirli ulteriormente con il diluente e testarli nuovamente. Per la concentrazione finale di questi campioni diluiti si dovrà considerare il fattore di diluizione appropriato. Un esempio di curva standard è fornito sul report del controllo di qualità. Tale curva non può essere utilizzata per il calcolo di campioni non noti.

Il calcolo strumentale dei valori radio-immunologici misurati viene eseguito in base ad un'approssimazione spline.

Controllo di qualità

Attenersi agli procedure di controllo di qualità applicate nei laboratori medici.

L'esattezza e la precisione dei risultati dovranno venire verificate con sieri di controllo o pool di sieri preparati dal laboratorio.

Il controllo contenuto nel kit è perfettamente idoneo per il controllo di qualità interno in laboratorio. Questo controllo dovrà essere testato simultaneamente con ciascuna esecuzione del test e trattato come un campione del paziente.

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

In uomini sani e in donne non gravide (n=63) i valori di AFP nel siero non aumentano oltre 6 IU/mL (95%ile). Livelli più elevati sono indicativi di attività neoplastiche.

Nel corso della gravidanza le concentrazioni di AFP nel siero materno aumentano sino alla 28^a-32^a settimana. Nel periodo successivo della gestazione si riscontra una diminuzione dei valori.

Livelli di alfa-fetoproteina superiori all'intervallo di riferimento evidenziano anomalie fetali. Il risultato ottenuto nel siero viene confermato anche mediante un dosaggio dell'AFP nel liquido amniotico.

Con donne gravide sane sono stati determinati i seguenti valori nel siero e nel liquido amniotico** per il dosaggio IRMA® - mat AFP.

Valori normali di AFP all'inizio della gravidanza

Settimana di gestazione	AFP nel siero materno		AFP nel liquido amniotico**	
	(Media IU/mL)	(n*)	(Media IU/mL)	(n*)
15	26,7	236	17 083	15
16	28,0	236	14 679	107
17	34,1	236	12 532	135
18	38,4	236	10 075	106
19	41,9	236	8 381	37
20	60,0	236	6 877	24

** I valori nel liquido amniotico sono stati stabiliti con il test LIAISON® AFP. Poiché vengono utilizzati gli stessi anticorpi in entrambi i test, i valori determinati con il test LIAISON® AFP possono venire considerati come valori indicativi.

Dal momento che i valori AFP possono variare in rapporto al metodo di laboratorio applicato, ogni laboratorio dovrà determinare propri intervalli di riferimento.

Limiti del dosaggio

Pazienti con carcinoma possono evidenziare anche valori AFP compresi nella norma.

In alcune patologie benigne come la cirrosi epatica, l'epatite o la tirosinemia, al contrario, possono riscontrarsi livelli elevati di AFP (8). Pertanto il dosaggio dell'AFP risulta adeguato soprattutto per il controllo della terapia, durante il trattamento e per la conferma dei reperti istologici. Il dosaggio dell'AFP non può da solo venire impiegato come test per lo screening dei tumori.

Poiché con il dosaggio IRMA-mat® AFP non sono stati rilevati dati per la diagnosi della trisomia del cromosoma 21, il test non è raccomandato per l'impiego nel Triplo test.

In tutti i test nei quali l'antigene viene incubato in fase liquida contemporaneamente con gli anticorpi immobilizzati e con gli anticorpi marcati, è possibile che campioni contenenti concentrazioni estremamente elevate dell'antigene, in sede di misurazione, forniscano valori al di sotto dello standard più alto. Nel dosaggio IRMA-mat® AFP ciò si verifica a concentrazioni superiori a 30 000 IU/mL. Ove vi siano dubbi si dovrà ripetere la misurazione dopo un'ulteriore diluizione del campione (ad esempio con fattore di diluizione 10, 100, 1000).

HAMA

Campioni di pazienti contenenti anticorpi umani antimurini (HAMA), possono in linea di principio fornire valori falsamente aumentati o diminuiti. Nonostante l'aggiunta nel saggio di agenti neutralizzanti gli HAMA, non è tuttavia possibile escludere con assoluta certezza un'influenza sui risultati del test. Questi campioni non devono venire utilizzati per il saggio IRMA-mat® AFP.

Dati analitici

Calibrazione

Il saggio IRMA-mat® AFP è stato calibrato utilizzando lo standard di riferimento MRC 72/225 .

1ng AFP = 0.83 IU AFP (MRC 72/225)

1IU AFP (MRC 72/225) = 1.21 ng AFP

Intervallo di misura

L'intervallo di misura è compreso tra 2 e 600 IU/mL.

Effetto gancio ad alte dosi

Non è stato osservato alcun effetto gancio (ad alte dosi) sino a una concentrazione di 30 000 IU/mL.

Precisione

Intra-saggio			Inter-saggio		
Valore medio (IU/mL)	CV (%)	n=	Valore medio (IU/mL)	CV (%)	n=
19	2,6	11	11	6,9	11
99	2,8	11	106	4,5	11
338	1,8	11	170	4,2	11

Sensibilità analitica

Il limite di rilevazione inferiore è inferiore a 2,0 IU AFP/mL. Viene calcolato come il valore che si trova tre deviazioni standard al di sopra dello zero; rappresenta la concentrazione minima di AFP misurabile che può essere distinta in modo statisticamente significativo dallo zero.

Specificità

Non sono state riscontrate reazioni crociate con mitomicina-C, doxorubicina e fluoruracile in intervalli di impiego terapeutici.

Diluizione

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

Concentrazione iniziale: 457,5 IU/mL

Diluizione	Valore misurato (IU/mL)	Valore misurato (IU/mL)	Recupero (%)
1 : 1,25	368	366	101
1 : 2,5	202	183	110
1 : 5	100	92	109
1 : 10	50	46	109

Recupero

Al siero di un paziente con basso contenuto di AFP sono state aggiunte diverse concentrazioni di AFP quindi ne è stato calcolato il recupero.

Concentrazione iniziale: 3,4 IU/MI

Valore misurato (IU/mL)	Valore atteso IU/mL)	Recupero (%)
253	252	100
197	202	97
154	153	101
52	53	98



DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue, P.O. Box 285,
Stillwater, MN 55082-0285 U.S.A.
Phone: 651-439-9710 - Fax: 651-351-5669



IRMA-mat® AFP

Informations sur l'utilisation

REF 324.471

100 tests

Français

IVD

Pour usage professionnel uniquement!

But du dosage

Test *in vitro* pour la détermination quantitative de l'alpha-fœtoprotéine (AFP) dans le sérum humain et dans le liquide amniotique lors du contrôle de la grossesse et pendant le post-traitement des patients atteints de tumeurs. Les caractéristiques du dosage ne sont pas définies pour le diagnostic de la trisomie 21.

Résumé et explication du test

L'alpha-fœtoprotéine est une glycoprotéine macromoléculaire (pm d'environ 68.000), se composant d'une chaîne polypeptidique unique. L'AFP se forme dans le sac vitellin et dans le foie fœtal et fait partie du groupe des protéines oncofœtales.

Le test AFP est effectué en oncologie en cas de cancers des cellules du foie (1, 5) et de tumeurs des cellules du gamète (3, 6, 7) (tumeurs non séminomateuses des testicules, tumeur endodermique de l'ovaire) et pendant le contrôle de la grossesse (2, 4). Pendant la grossesse, les valeurs d'AFP augmentent de manière continue dans le sang maternel. Après avoir atteint un maximum dans la 28^{ème}-32^{ème} semaine de grossesse, ces valeurs redescendent jusqu'à la naissance. Dans le liquide amniotique, le maximum est atteint au cours de la 13^{ème}-15^{ème} semaine de grossesse. L'augmentation des concentrations d'AFP au stade initial de la grossesse indique des anomalies au niveau du tube neural (spina bifida, anencéphalie).

Dans le cadre du suivi et du contrôle thérapeutique des patients atteints de cancer, la détermination de l'AFP dans le sérum fournit des indications importantes sur la réussite d'un traitement, ainsi que sur l'apparition de récidives.

Principe du dosage

Dosage immunoradiométrique basé sur le «principe du sandwich». Deux anticorps monoclonaux hautement spécifiques différents sont utilisés pour le revêtement de la phase solide (tubes revêtus) et pour le traceur.

L'anticorps du revêtement et l'anticorps du traceur réagissent au cours d'une même phase de réaction avec la AFP provenant d'étalons et d'échantillons. Le matériel non lié est supprimé dans une phase de lavage. Après le lavage du traceur libre, la radioactivité liée à la paroi du tube est mesurée (compteur à scintillations gamma).

CONTENU

Tests	100
Anticorps anti-AFP marqués a l' ¹²⁵ I (traceur), monoclonal (souris), rouge	33 mL
Activité (kBq / µCi)	< 424 /11.5
7 étalons A-G (0,6 mL) dans sérum albumine humain (La concentration exacte est indiquée sur l'étiquette de chaque flacon)	1 série
Diluant (0 UI/mL) dans tampon phosphate (concentré)	2 x 11 mL
Tube, revêtu d'anticorps anti-AFP, monoclonal (souris)	2 x 50
Contrôle, humain, lyophile	0,6 mL
Rapport de contrôle de qualité	1

Matériel nécessaire, mais non fourni

- Micropipettes (25 µL, 300 µL) à embouts en plastique jetables
- Mélangeur vortex
- Appareil de lavage manuel ou automatique avec dispositif d'aspiration
- Secoueur horizontal
- Compteur à scintillations gamma
- Ou robot de laboratoire approprié, si disponible
- Tubes en polystyrène non revêtus pour la dilution de sérums et contrôles
- Eau purifiée

Précautions

Réactifs contenant des produits d'origine humaine

Traiter comme potentiellement infectieux.

Chaque don de sérum/plasma intervenant dans la préparation de ce produit a été testé par une méthode agréée par la FDA et s'est avéré non réactif en présence de HBsAG, d'anticorps anti-VHC et d'anticorps anti-VIH1/2. Même si ces méthodes sont extrêmement précises, elles ne garantissent pas la détection de tous les dons infectés. Ce produit peut également contenir d'autres produits d'origine humaine pour lesquelles il n'existe aucun test agréé. Comme aucune méthode de test connue ne peut offrir l'assurance complète de l'absence du virus de l'hépatite B (HBV) de l'hépatite C (HCV), du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) ou d'autres agents infectieux, tous les produits d'origine humaine doivent être manipulés conformément aux bonnes pratiques de laboratoire en prenant les précautions appropriées décrites dans le document U.S. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health Manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," 4 mai 1999 ou dernière édition.

Réactifs contenant de l'iode 125

Cette trousse contient un produit radioactif qui ne dépasse pas 11.5 µCi (424 kBq) d'iode-125. Les précautions appropriées et les bonnes pratiques de laboratoire doivent être utilisées pour la conservation, la manipulation et la mise au rebut 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 des centres de recherche dans le cadre de la pratique de médecine vétérinaire, de laboratoires cliniques ou des hôpitaux, 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 sujets aux réglementations et à la licence générale de l'U.S. Nuclear Regulatory Commission 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 radioactive. 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'Etat 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 radio-activité théorique de la trousse.

Réactifs contenant du nitrure de sodium

ATTENTION : Certains réactifs de cette trousse contiennent du nitrure de sodium. Le nitrure de sodium peut réagir avec la plomberie en plomb ou en cuivre et former des azotures ultra-explosifs. Pour leur mise au rebut, rincer à grande eau pour empêcher l'accumulation de nitrure. Pour plus d'informations, consulter "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts," dans le manuel Guide-Safety Management No. CDC-22 publié par les Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA,.

Préparation des réactifs

Avant de commencer le test, amener les composants du test à température ambiante (18-25°C) et bien les mélanger. (Éviter la formation de mousse.)

Ouvrir délicatement le contrôle et le reconstituer avec 0,6 mL d'eau purifiée (Éviter la formation de mousse.) Veiller à dissoudre en même temps le matériel lyophilisé adhérant aux capuchons de fermeture.

20 mL de diluant – Diluer le concentré avec 100 mL d'eau purifiée.

Stockage des réactifs

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

Stocker tous les autres réactifs à 2-8°C. Ils peuvent se conserver jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage.

- **Stocker debout.**

- **Conserver à l'abri de lumière directe.**

Prélèvement et stockage des échantillons

- Prélever les échantillons selon les prescriptions en vigueur.

- Matériel pour échantillons: sérum; liquide amniotique. Aucune perturbation connue due au plasma.

- Stockage à 2-8°C. 24 h

- Pour conserver les échantillons sur une période prolongée, les congeler à -20°C.

- Un cycle unique de congélation et décongélation n'a aucun impact sur les résultats du test.

- Mélanger soigneusement les échantillons stockés avant de les utiliser (mélangeur vortex).

- Ne pas utiliser des sérums agglomérés, lipémiques, hémolysés, ictériques ou contaminés.

Interferents

Aucune interférence n'a été décelée sur les résultats du test par la bilirubine < 0,125 mg/mL, l'hémoglobine < 500 mg/dL ou le triglycéride < 12,5 mg/mL.

Conseils pour l'exécution du test

- Les composants de la trousse sont parfaitement adaptés les uns aux autres. En cas de remplacement ou mélange de composants de différentes charges, le fabricant ne garantit plus la fiabilité des résultats. Les numéros de charges des composants originaux sont repris sur le fond de l'emballage de la trousse.

- Respecter impérativement le mode opératoire.

- Régler la durée de mesure sur 1 minute minimum.

- Ne plus utiliser cette trousse après la date de péremption indiquée sur l'emballage.

- Respecter les directives pour exécuter le contrôle de qualité en laboratoire médical.

- Éviter toute contamination microbienne des réactifs.

Mode opératoire

Il est recommandé de déterminer les étalons et les échantillons en doublets.

Si des valeurs sont susceptibles de dépasser les étalons maximum, les échantillons devront être dilués avec le diluant (facteur de dilution, par exemple 10, 100, 1000).

Les échantillons de liquide amniotique doivent toujours être dilués, une dilution de 1:100 avec le diluant fourni dans la trousse étant suffisante au cours des semaines de grossesse capitales pour le diagnostic (16^{ème}–19^{ème} semaine). Dans les cas pathologiques, un rapport de dilution supérieur peut se révéler nécessaire. (Tests parallèles de dilution à 1/100 et 1/1000.)

Pour l'exécution et l'évaluation manuelles du test, on peut également utiliser un robot de laboratoire approprié, sous la responsabilité du laboratoire.

1. Pipeter 25 µL d'étalon, de contrôle ou d'échantillon dans le fond d'un tube revêtu.
2. Ajouter 300 µL de traceur et bien mélanger (mélangeur vortex).
3. Laisser incuber les tubes pendant 3 h (\pm 5 min) à température ambiante (18–25°C) sur un secoueur horizontal.*
4. Aspirer le liquide.
5. Laver tous les tubes 3 x avec 2 mL d'eau purifiée.
6. Mesurer la radioactivité (CPM) dans tous les tubes (minimum 1 min.).

25 µL	d'étalon, contrôle ou échantillon des patients à pipeter dans le fond d'un tube.
300 µL	de traceur à ajouter. Mélanger.
3 h (\pm 5 min)	à laisser incuber à température ambiante (18-25°C), sur le secoueur.* Aspirer.
3 x 2 mL	Laver avec de l'eau purifiée.
1 min	de mesurage (compteur à scintillations gamma).

*** Maintenir les conditions de secouage constantes!**

Conditions optimales:

Amplitude 20 mm = 150 rpm

Amplitude 10 mm = 220 rpm

Amplitude < 8 mm = 300 rpm

Évaluation

La courbe d'étalonnage peut être établie manuellement comme suit.

1. Détermination de la valeur CPM moyenne pour chaque paire de tubes (détermination en doublets)
2. Diviser les valeurs CPM moyennes de chaque étalon (B) par la valeur CPM moyenne de l'étalon maximum (B_{max}) et multiplier par le facteur 100, pour obtenir la liaison relative en pour cent ($\%B/B_{max}$) pour chaque étalon.
3. Reporter les liaisons relatives ($\%B/B_{max}$) de tous les étalons (axe des Y), en fonction des concentrations correspondantes (UI/mL) (axe des X) sur du papier semi-logarithmique.
4. Les concentrations des échantillons (UI/mL) peuvent être calculées directement sur la courbe d'étalonnage au moyen de leurs liaisons relatives ($\%B/B_{max}$).

Si la radioactivité calculée est supérieure à celle de l'étalon maximum, les échantillons devront être dilués à l'aide du diluant et retestés. La concentration effective en sérum des échantillons dilués doit être calculée selon le facteur de dilution. Un exemple de courbe d'étalonnage figure sur le rapport de contrôle de qualité. Cette courbe ne peut en aucun cas être utilisée pour calculer des échantillons inconnus.

Le calcul par instruments de valeurs de mesure radio-immunologiques s'effectue au moyen d'une approximation spline.

Contrôle de qualité

Respecter les directives pour exécuter le contrôle de qualité en laboratoire médical.

Utiliser des sérums de contrôle ou des sérums du laboratoire pour contrôler l'exactitude et la précision des résultats.

Le contrôle fourni dans la trousse est bien adapté pour le contrôle de qualité en laboratoire. Il doit être utilisé pour chaque détermination et traité comme chaque échantillon du patient.

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

Chez les hommes sains et les femmes non enceintes (n=63), les valeurs d'AFP dans le sérum ne dépassent pas 6 UI/mL (95^{ème} pourcentile). Des valeurs plus élevées indiquent des activités néoplastiques.

Pendant la grossesse, les concentrations d'AFP augmentent dans le sérum humain jusqu'à la 28^{ème}-32^{ème} semaine de grossesse. On observe ensuite une diminution des valeurs.

Des valeurs d'AFP supérieures à l'intervalle de référence indiquent une détérioration du fœtus. Le résultat du sérum est contrôlé par la détermination de l'AFP dans le liquide amniotique.

Les valeurs suivantes ont pu être déterminées dans le sérum et le liquide amniotique** de femmes saines, enceintes, pour l'IRMA® - mat AFP.

Valeurs normales de l'AFP au stade initial de la grossesse

Semaine de grossesse	AFP dans le sérum humain (UI/mL moyen)	(n*)	AFP dans le liquide amniotique** (UI/mL moyen)	(n*)
15	26,7	236	17 083	15
16	28,0	236	14 679	107
17	34,1	236	12 532	135
18	38,4	236	10 075	106
19	41,9	236	8 381	37
20	60,0	236	6 877	24

** Les valeurs du liquide amniotique ont été calculées à l'aide du test LIAISON® AFP. Les mêmes anticorps ayant été utilisés dans les deux tests, les valeurs calculées à l'aide du test LIAISON® AFP peuvent être considérées comme des valeurs indicatives.

Étant donné que les valeurs d'AFP peuvent varier en fonction de la méthode de laboratoire, chaque laboratoire doit établir son propre de référence.

Limitations du procédé

Les patients atteints de cancers peuvent présenter des valeurs d'AFP situées dans la fourchette normale.

En cas de maladies bénignes comme la cirrhose du foie, l'hépatite ou la tyrosinémie, en revanche, les valeurs d'AFP peuvent être supérieures (8). C'est la raison pour laquelle le test AFP convient surtout pour le contrôle thérapeutique après ou pendant le traitement et pour la confirmation des résultats histologiques. Le dosage AFP à lui seul ne peut pas être utilisé pour le tumor screening.

Le dosage IRMA-mat® AFP ne permettant de recueillir aucune donnée pour le diagnostic de la trisomie 21, le test n'est pas recommandé pour le triple screening.

Dans tous les tests, au cours desquels l'antigène est incubé dans une phase liquide en même temps que des anticorps immobilisés et des anticorps marqués, il est possible que des échantillons contenant des concentrations extrêmement élevées d'antigène donnent, lors du mesurage, des valeurs inférieures à l'étalon maximum. Avec l'IRMA-mat® AFP, ce phénomène se produit à des concentrations supérieures à 30 000 UI/mL. En cas de doute, la mesure devra être répétée après avoir dilué davantage l'échantillon (par exemple d'un facteur 10, 100, 1000).

HAMA

Les échantillons des patients qui contiennent des anticorps humains antisouris (HAMA) peuvent en principe donner des valeurs faussement supérieures ou inférieures. Des substances neutralisant l'HAMA ont été ajoutées au test. Il n'est toutefois pas exclu une influence sur les résultats du test pour échantillons avec HAMA très élevés. Ces échantillons ne peuvent pas être utilisés pour l'IRMA-mat® AFP.

Données analytiques

Calibrage

L'IRMA-mat® AFP a été calibré à l'aide de l'étalon de référence MRC 72/225.

1ng AFP = 0.83 IU AFP (MRC 72/225)

1IU AFP (MRC 72/225) = 1.21 ng AFP

Intervalle de mesure

La plage de mesure est de 2-600 UI/mL.

Effet crochet à doses élevées

Un effet crochet n'a pas été observé qu'à des concentrations supérieures à 30.000 UI/mL.

Fidélité

Intra-essai			Inter-essai		
Valeur moyenne (UI/mL)	CV (%)	n=	Valeur moyenne (UI/mL)	CV (%)	n=
19	2,6	11	11	6,9	11
99	2,8	11	106	4,5	11
338	1,8	11	170	4,2	11

Sensibilité analytique

La limite de détection minimale est inférieure à 2,0 UI d'AFP/mL. Cette limite de détection est définie comme une valeur se situant trois écarts types au-dessus de zéro et est la concentration d'AFP minimale que l'on a pu distinguer de zéro.

Spécificité

Aucune interaction n'a été observée avec la mitomycine-C, la doxorubicine et le fluorouracil en application thérapeutique.

Dilution

Un sérum patient a été dilué avec le diluant et mesuré. Les valeurs de mesure ont été comparées avec les valeurs théoriques obtenues par la régression linéaire.

Concentration initiale. 457,5 UI/mL

Dilution	Valeur de mesure (UI/mL)	Valeur théorique (UI/mL)	Récupération (%)
1 : 1,25	368	366	101
1 : 2,5	202	183	110
1 : 5	100	92	109
1 : 10	50	46	109

Récupération

Un sérum d'un patient avec une concentration basse de AFP a été enrichi de diverses quantités d'AFP et mesuré.

Concentration initiale. 3,4 UI/mL

Valeur mesuré (UI/mL)	Valeur théorique (UI/mL)	Récupération (%)
253	252	100
197	202	97
154	153	101
52	53	98



DiaSorin Inc.
 1951 Northwestern Avenue, P.O. Box 285,
 Stillwater, MN 55082-0285 U.S.A.
 Phone: 651-439-9710 - Fax: 651-351-5669



IRMA-mat[®] AFP

Gebrauchsinformation

REF 324.471

100 Bestimmungen

Deutsch

IVD

Nur für den Gebrauch durch Fachpersonal!

Anwendung

In vitro Test zur quantitativen Bestimmung von Alpha-Fetoprotein (AFP) in Humanserum und Fruchtwasser in der Schwangerschaftsüberwachung und während der Nachsorge von Tumorpatienten. Die Testmerkmale sind nicht für die Diagnostik der Trisomie 21 bestimmt worden.

Zusammenfassung und Erläuterung des Tests

Das Alpha-Fetoprotein ist ein hochmolekulares Glykoprotein (MG ca. 68.000), das aus einer einzigen Polypeptidkette besteht. AFP wird im Dottersack und in der fetalen Leber gebildet und gehört zur Gruppe der onkofetalen Proteine.

AFP wird bestimmt in der Onkologie bei Leberzellkarzinomen (1,5) und Keimzelltumoren (3,6,7) (nichtseminomatöse Hodentumoren, endodermaler Sinustumor des Ovars) und in der Schwangerschaftsüberwachung (2,4). Während der Schwangerschaft steigt der AFP-Spiegel im mütterlichen Blut kontinuierlich an. Nach Erreichen eines Maximums in der 28.-32. Schwangerschaftswoche (SSW) fällt er bis zur Geburt wieder ab. Im Fruchtwasser liegt das Maximum um die 13.-15. SSW. Erhöhte AFP-Konzentrationen in der Frühschwangerschaft weisen auf Neuralrohrdefekte hin (Spina bifida, Anencephalie).

Die Serum-AFP Bestimmung liefert in der Verlaufs- und Therapiekontrolle von Karzinompatienten wichtige Hinweise über den Erfolg einer Behandlung sowie über das Auftreten von Rezidiven.

Testprinzip

Immunradiometrischer Assay, dem das "Sandwich-Prinzip" zugrundeliegt. Für die Beschichtung der Festphase (Coated Tube) und für den Tracer werden zwei verschiedene hochspezifische monoclonale Antikörper verwendet.

Beschichtungs-Antikörper und Tracer-Antikörper reagieren in einem Reaktionsschritt mit dem AFP aus Standard und Probe. Ungebundenes Material wird in einem Waschschrift entfernt. Nach dem Auswaschen von freiem Tracer wird die an die Röhrchenwand gebundene Radioaktivität gemessen (Gammazintillationszähler).

CONTENTS

Bestimmungen	100
¹²⁵ I-Antikörper-anti-AFP (tracer), monoclonal (Maus), rot Aktivität (kBq / μ Ci)	33 mL < 424 / 11.5
7 Standards A-G (0,6 mL) in Humanserumalbumin, (Die genauen Konzentrationen sind auf jedem Fläschchen angegeben)	1 set
Diluent (0 IU/mL) in Phosphatpuffer (Konzentrat)	2 x 11 mL
Teströhrchen, beschichtet mit Antikörpern-anti-AFP, monoclonal (Maus)	2 x 50
Kontrolle, human, lyophil.	0,6 mL
Qualitätskontrollbericht	1

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

- Mikropipetten (25 µL, 300 µL) mit Einwegplastikspitzen
- Vortex-Mischer
- Manuelles oder automatisches Waschgerät mit Absaugvorrichtung
- Horizontalschüttler
- Gammazintillationszähler
- Alternativ ein geeigneter Laborautomat, falls verfügbar
- Unbeschichtete Polystyrenröhrchen für die Verdünnung von Seren und Kontrollen
- Gereinigtes Wasser

Vorsichtsmaßnahmen

Reagenzien mit Material humanen Ursprungs

Dieses Produkt ist als potenziell infektiös zu behandeln.

Alle in der Herstellung dieses Produktes verwendeten Serum- bzw. Plasma-spendeeinheiten wurden nach einer von der FDA der USA genehmigten Methode getestet und für nicht reaktiv auf das Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAg), Hepatitis-C-Antikörper (HCV) und Antikörper für HIV-1/2 befunden. Obwohl diese Methode äußerst genau ist, bietet sie keine Gewähr dafür, dass alle infizierten Einheiten identifiziert werden können. Dieses Produkt kann auch Material humanen Ursprungs enthalten, für welches es noch kein genehmigtes Testverfahren gibt. Da keine der zur Zeit bekannten Testmethoden absolute Gewähr für den Ausschluss des Hepatitis-B-Virus (HBV), des Hepatitis-C-Virus (HCV), des Aids-Virus (HIV) oder anderer Infektionserreger bieten kann, sind alle Produkte mit Komponenten humanen Ursprungs unter Einhaltung guter Laborpraktiken und entsprechender Vorsichtsmaßnahmen laut Empfehlungen des Leitfadens der Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 4. Auflage, Mai 1999, oder aktuelle Auflage, als potenziell infektiöse Substanzen zu behandeln.

Reagenzien mit Jod-125

Dieses Kit enthält radioaktives Material mit höchstens 11.5 µCi (424 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:

Entgegennahme, Erwerb, Besitz und Verwendung dieses radioaktiven Materials sind nur Ärzten, veterinärmedizinisch tätigen Tierärzten, klinischen Labors oder Krankenhäusern und nur für klinische In-vitro-Tests oder In-vitro-Labortests gestattet, bei denen kein interner oder externer Kontakt des Materials oder seiner Strahlung mit Menschen oder Tieren stattfindet. 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 von den Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, 1976.

Vorbereitung der Reagenzien

Testkomponenten vor Testbeginn auf Raumtemperatur (18–25°C) bringen und gut durchmischen. (Schaumbildung vermeiden).

Die Kontrolle vorsichtig öffnen und mit 0,6 mL gereinigtes Wasser rekonstituieren. (Schaumbildung vermeiden). Darauf achten, dass an den Verschlusskappen anhaftendes lyophilisiertes Material mit aufgelöst wird.

20 mL Diluent - Konzentrat mit 100 mL gereinigtes Wasser verdünnen.

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. Sie sind bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatum haltbar.

- **Aufrecht stehend lagern**

- **Vor direkter Lichteinwirkung schützen**

Probengewinnung und -lagerung

- Die Probengewinnung ist gemäß den Standardvorschriften durchzuführen.
- Probenmaterial: Serum; Fruchtwasser. Störungen durch Plasma sind nicht bekannt.
- Lagerung bei 2 - 8°C: 24 h.
- Für eine längere Aufbewahrung Proben bei -20°C einfrieren.
- Einmaliges Einfrieren und Auftauen hat keinen Einfluss auf die Testergebnisse.
- Gelagerte Proben vor Verwendung gründlich durchmischen (Vortex-Mischer).
- Verklumpte, lipämische, hämolytische, ikterische oder kontaminierte Seren sollen nicht verwendet werden.

Störeinflüsse

Es wurden keine Störeinflüsse auf die Testergebnisse durch Bilirubin < 0,125 mg/mL; Hämoglobin < 500 mg/dL oder Triglyceride < 12,5 mg/mL beobachtet.

Durchführungshinweise

- Die einzelnen Komponenten des Kits sind optimal aufeinander abgestimmt. Beim Austausch oder Mischen von Komponenten verschiedener Chargen gewährleistet der Hersteller die Zuverlässigkeit der Ergebnisse nicht mehr. Die Chargen-Nummern der Originalkomponenten sind auf der Unterseite der Kitpackung aufgelistet.
- Angegebene Reihenfolge der Pipettierschritte unbedingt beachten.
- Die Messzeit auf mindestens 1 Minute einstellen.
- Dieses Testbesteck nach dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatum nicht mehr verwenden.
- Die Richtlinien zur Durchführung der Qualitätskontrolle in medizinischen Laboratorien beachten.
- Mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden.

Testdurchführung

Es wird die Doppelbestimmung von Standards und Proben empfohlen.

Sind Werte oberhalb des höchsten Standards zu erwarten, sollten die Proben mit Diluent verdünnt werden (Verdünnungsfaktor z.B. 10, 100, 1000).

Fruchtwasserproben müssen stets verdünnt werden, wobei in den diagnostisch wesentlichen Schwangerschaftswochen (16.-19. Woche) eine 1:100-Verdünnung mit dem im Kit enthaltenen Diluent ausreichend ist. In pathologischen Fällen kann eine höhere Verdünnung erforderlich werden. (Parallelbestimmungen von 1:100 und 1:1000-Verdünnung).

Alternativ zur manuellen Durchführung und Auswertung kann in Verantwortung des Labors auch ein geeigneter Laborautomat eingesetzt werden.

1. 25 µL Standard, Kontrolle bzw. Patientenprobe auf den Boden eines beschichteten Teströhrchens pipettieren.
2. 300 µL Tracer zugeben, mischen (Vortex-Mischer)
3. Die Röhrchen 3 h (\pm 5 min) bei Raumtemperatur (18–25°C) auf einem Horizontalschüttler inkubieren.*
4. Flüssigkeit absaugen.
5. Alle Röhrchen 3 x mit 2 mL Gereinigtes wasser waschen.
6. Radioaktivität (CPM) in allen Röhrchen messen (mind. 1 min.).

25 µL	Standard, Kontrolle oder Patientenprobe auf den Boden eines Teströhrchens pipettieren
300 µL	Tracer zugeben Mischen
3 h (\pm 5 min)	bei RT (18–25°C) inkubieren, auf Schüttler* Absaugen
3 x 2 mL	mit Gereinigtes wasser waschen
1 min	Messen (Gammazintillationszähler)

* Schüttelbedingungen konstant halten!

Optimale Bedingungen:

Amplitude 20 mm = 150 Upm

Amplitude 10 mm = 220 Upm

Amplitude < 8 mm = 300 Upm

Auswertung

Die Standardkurve kann manuell wie folgt erstellt werden:

1. Bestimmung des CPM-Mittelwertes für jedes Teströhrchenpaar (Doppelbestimmung)
2. Die CPM-Mittelwerte der einzelnen Standards (B) werden durch den CPM-Mittelwert des höchsten Standards (Bmax) geteilt und mit dem Faktor 100 multipliziert, um die prozentuale relative Bindung (%B/Bmax) für jeden Standard zu erhalten.
3. Auf halblogarithmischem Papier werden die relativen Bindungen (%B/Bmax) aller Standards (Y-Achse) gegen die entsprechenden Konzentrationen (IU/mL) aufgetragen (X-Achse).
4. Die Konzentrationen der Proben können anhand ihrer entsprechend ermittelten relativen Bindungen (%B/Bmax) direkt an der Standardkurve abgelesen werden.

Liegt die gemessene Radioaktivität über der des höchsten Standards, müssen die Proben mit dem Diluent verdünnt und erneut getestet werden. Bei verdünnten Proben muss die tatsächliche Serumkonzentration entsprechend dem Verdünnungsfaktor ermittelt werden. Ein Beispiel für eine Standardkurve ist auf dem Qualitätskontrollbericht angegeben. Diese Kurve darf nicht zur Berechnung unbekannter Proben verwendet werden.

Die instrumentelle Berechnung radio-immunologischer Messwerte erfolgt mittels einer Spline-Approximation.

Qualitätskontrolle

Die Richtlinien zur Durchführung der Qualitätskontrolle in medizinischen Laboratorien beachten.

Zur Überprüfung der Richtigkeit und Präzision der Ergebnisse sollten Kontrollseren oder hausintern gepoolte Seren verwendet werden.

Für die laborinterne Qualitätskontrolle ist die im Kit enthaltene Kontrolle gut geeignet. Sie sollte bei jedem Ansatz mitgeführt und wie jede Patientenprobe 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

Bei gesunden Männern und nichtschwangeren Frauen (n=63) steigen die AFP-Serumwerte nicht über 6 IU/mL an (95% - ile). Höhere Werte deuten auf neoplastische Aktivitäten hin.

Während der Schwangerschaft steigen die AFP-Konzentrationen im mütterlichen Serum bis zur 28.-32. Schwangerschaftswoche an. Danach ist ein Abfall der Werte zu beobachten.

Oberhalb des Referenzbereichs liegende AFP-Werte deuten auf eine Schädigung des Feten hin. Der Serumbefund wird durch eine AFP-Bestimmung im Fruchtwasser überprüft.

Mittels gesunder, schwangerer Frauen wurden folgende Werte in Serum und Fruchtwasser** für den IRMA® - mat AFP ermittelt.

AFP Normalwerte in der frühen Schwangerschaft

Schwangerschaftswoche	AFP im mütterlichen Serum		AFP im Fruchtwasser**	
	(Median IU/mL)	(n*)	(Median IU/mL)	(n*)
15	26,7	236	17.083	15
16	28,0	236	14.679	107
17	34,1	236	12.532	135
18	38,4	236	10.075	106
19	41,9	236	8.381	37
20	60,0	236	6.877	24

** Die Fruchtwasserwerte wurden mit dem LIAISON® AFP Test ermittelt. Da in beiden Testen die gleichen Antikörper eingesetzt werden, können die mit dem LIAISON® AFP ermittelten Werte als Richtwerte angesehen werden.

Da die AFP-Werte in Abhängigkeit von der Labormethode variieren können, sollte jedes Labor seinen eigenen Referenzbereich erstellen.

Grenzen des Verfahrens

Patienten mit Karzinomen können auch AFP-Werte innerhalb des Normalbereichs aufweisen.

Bei benignen Erkrankungen wie Leberzirrhose, Hepatitis oder Tyrosinämie können dagegen die AFP-Spiegel erhöht sein (8). Deshalb eignet sich die AFP-Bestimmung vor allem zur Therapiekontrolle nach oder während der Behandlung und zur Bestätigung der histologischen Befunde. Der AFP-Assay allein darf nicht zum Tumor-Screening benutzt werden.

Da mit dem IRMA-mat® AFP Assay keine Daten zur Diagnose der Trisomie 21 erhoben wurden, wird der Test für den Einsatz beim Triple-Screening nicht empfohlen.

Bei allen Tests, in denen Antigen gleichzeitig mit immobilisierten Antikörpern und mit markierten Antikörpern in einer flüssigen Phase inkubiert wird, ist es möglich, dass Proben, die extrem hohe Konzentrationen des Antigens enthalten, bei der Messung Werte ergeben, die unterhalb des höchsten Standards liegen. Beim IRMA-mat® AFP geschieht dies bei Konzentrationen, die über 30.000 IU/mL liegen. Bei entsprechendem Verdacht sollte die Messung nach weiterer Verdünnung der Probe (z.B. um Faktor 10, 100, 1000) wiederholt werden.

HAMA

Patientenproben, die humane anti-Maus-Antikörper (HAMA) enthalten, können prinzipiell zu falsch erhöhten oder erniedrigten Werten führen. Dem Test wurden Substanzen zugesetzt, die HAMA neutralisieren. Eine Beeinflussung der Testergebnisse ist dennoch nicht völlig auszuschließen. Diese Proben sollten für den IRMA-mat® AFP nicht verwendet werden.

Analytische Daten

Kalibration

Der IRMA-mat® AFP wurde unter Verwendung des Referenzstandards MRC 72/225 kalibriert.

1ng AFP = 0.83 IU AFP (MRC 72/225)

1IU AFP (MRC 72/225) = 1.21 ng AFP

Messbereich

Der Messbereich beträgt 2 – 600 IU/mL.

High-Dose Hook

Ein High-Dose Hook Effekt wurde bei Konzentrationen bis zu 30 000 IU/mL nicht beobachtet.

Präzision

Intra-Assay-Variation			Inter-Assay-Variation		
Mittelwert (IU/mL)	CV (%)	n=	Mean value (IU/mL)	CV (%)	n=
19	2,6	11	11	6,9	11
99	2,8	11	106	4,5	11
338	1,8	11	170	4,2	11

Analytische Sensitivität

Die untere Nachweisgrenze liegt unter 2,0 IU AFP/mL. Diese Nachweisgrenze ist definiert als ein Wert, der drei Standardabweichungen über dem Nullstandard liegt; er ist die niedrigste AFP-Konzentration, die statistisch signifikant von Null unterschieden werden kann.

Spezifität

Es wurden keine Kreuzreaktionen mit Mitomycin-C, Doxorubicin und Flourouracil im therapeutischen Einsatz gefunden.

Ein Patientenserum wurde mit Diluent verdünnt und gemessen. Die Messwerte wurden mit den aus der linearen Regression erhaltenen Sollwerten verglichen.

Ausgangskonzentration: 457,5 IU/mL

Verdünnung	Messwert (IU/mL)	Sollwert (IU/mL)	Wiederfindung (%)
1 : 1,25	368	366	101
1 : 2,5	202	183	110
1 : 5	100	92	109
1 : 10	50	46	109

Wiederfindung

Ein Patientenserum mit niedrigem AFP-Gehalt wurde mit verschiedenen AFP-Mengen angereichert und gemessen.

Ausgangskonzentration: 3,4 IU/MI

Messwert (IU/mL)	Sollwert (IU/mL)	Wiederfindung (%)
253	252	100
197	202	97
154	153	101
52	53	98



DiaSorin Inc.
 1951 Northwestern Avenue, P.O. Box 285,
 Stillwater, MN 55082-0285 U.S.A.
 Phone: 651-439-9710 – Fax: 651-351-5669



IRMA-mat[®] AFP

Instrucciones de uso

REF 324.471

100 ensayos

Español

IVD

Sólo para uso profesional

Indicaciones de uso

Ensayo *in vitro* para la cuantificación de alfa fetoproteína (AFP) en suero humano y en líquido amniótico durante el control del embarazo y el postratamiento de pacientes tumorales. Las prestaciones metodológicas del kit no se definen para el diagnóstico de la trisomía 21.

Resumen y descripción del ensayo

La alfa fetoproteína es una glicoproteína de alto peso molecular (PM 68.000 aprox.) compuesta por una única cadena polipeptídica. La AFP se forma en el saco vitelino y en el hígado fetal y pertenece al grupo de las proteínas oncofetales.

En oncología, la AFP se detecta en carcinomas de hepatocitos (1, 5) y tumores gaméticos (3, 6, 7) (tumores testiculares no seminomatosos, tumor de seno endodérmico del ovario) y durante el control del embarazo (2, 4). Durante la gestación, el nivel de AFP en la sangre de la madre aumenta de forma continua. Tras alcanzar el máximo entre la 28.^a y 32.^a semana de gestación, vuelve a descender hasta el parto. En el líquido amniótico, el máximo se registra entre la 13.^a y 15.^a semana de gestación. Una concentración elevada de AFP en el líquido amniótico indica defectos del surco neural (esпина bífida, anencefalia).

La detección de AFP en suero proporciona importantes indicios sobre el éxito de un tratamiento y sobre la aparición de recidivas en el control terapéutico y de la evolución de pacientes con carcinoma.

Principio del ensayo

Ensayo inmunoradiométrico basado en el “principio sándwich”. Para el recubrimiento de la fase sólida (tubo recubierto) y para el trazador, se emplean dos anticuerpos monoclonales distintos de alta especificidad.

El anticuerpo de recubrimiento y el anticuerpo trazador reaccionan en un paso de reacción con la AFP del estándar y la muestra. El material no fijado se retira posteriormente en un paso de lavado. Tras eliminar el trazador libre con el lavado, se mide la radioactividad asociada a la pared del tubo (contador de centelleo gamma).

CONTENIDO

Determinaciones	100
¹²⁵ I-anticuerpo anti-AFP (trazador), monoclonal (murino), rojo	33 mL
Actividad (kBq/iCi)	< 424 /11,5
7 estándares A-F (1,0 mL) en seroalbúmina humana, (La concentración exacta se indica en la etiqueta)	1 juego
Diluyente (0 UI/mL) en tampón fosfato (concentrado)	2 x 11 mL
Tubos de ensayo cubiertos con anticuerpo anti-AFP monoclonal (murino)	2 x 50
Control, humano, liofilizado	0,6 mL
Informe de control de calidad	1

Materiales necesarios pero que no se suministran

- Micropipetas (25 iL, 300 iL) con puntas de plástico monouso
- Mezclador vortex
- Dispositivo manual o automático de lavado con aspirador
- Agitador horizontal
- Contador de centelleo gamma
- Como alternativa, dispositivos automáticos de laboratorio (si están disponibles)
- Tubos de polistireno no recubiertos para la dilución de sueros y controles
- Agua purificada

Precauciones

Reactivos que contienen material de origen humano

Trátase como potencialmente infeccioso.

Todas las unidades de donantes de suero/plasma se han probado en conformidad con un método aprobado por la FDA estadounidense y han dado resultados negativos para la presencia de AgsHB, anticuerpos de VHC y anticuerpos de VIH ½. Aunque estos métodos son altamente precisos, no garantizan que se detecten todas las unidades infectadas. Este producto también puede contener otros materiales de origen humano para los cuales no existe prueba homologada. Dado que ningún método de prueba puede ofrecer una seguridad total de la ausencia del virus de la hepatitis B (VHB), de la hepatitis C (VHC), el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) u otros agentes infecciosos, todos los productos que contengan material de origen humano se deben manejar de acuerdo con las prácticas de laboratorio correctas utilizando las precauciones adecuadas que se describen en el manual "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 4ª edición, mayo de 1999 o actual, de Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.

Reactivos con contenido de yodo-125

Este equipo contiene material radiactivo que no supera de 11.5 µCi (424 kBq) de yodo-125. Para almacenar, manejar y desechar este material, deben adoptarse las precauciones necesarias y 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 a personal autorizado únicamente.
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 puedan producirse derrames deben enjugarse y después lavarse con un detergente alcalino o una solución decontaminante radiológica. Todo recipiente de vidrio utilizado debe enjugarse 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 impreso del interior 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. Al desecharlo, enjuague con abundante agua para evitar que se acumule la azida. Para obtener información adicional, consulte "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts," en el manual Guide-Safety Management N° CDC-22 publicado por Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976.

Preparación de los reactivos

Antes de iniciar el ensayo, someta los componentes a temperatura ambiente (18-25°C) y mézclelos bien. (Evite la formación de espuma.)

Abra con cuidado el control y reconstitúyalo con 0,6 mL de agua purificada. (Evite la formación de espuma). Asegúrese de que el material liofilizado adherido a los tapones también se diluya.

Diluya 20 mL de diluyente concentrado con 100 mL de agua purificada.

Almacenamiento de los reactivos

Control reconstituido: 1 semana entre 2 y 8°C o 4 semanas a -20°C.

El resto de los reactivos debe almacenarse a una temperatura de entre 2 y 8°C. Podrán utilizarse hasta la fecha de caducidad impresa en el envase.

- **Almacénese en posición vertical.**

- **Protéjase de la luz directa.**

Obtención y conservación de muestras

- Las muestras deben obtenerse de acuerdo con las disposiciones estándar.
- Material de muestra: suero, líquido amniótico. No se conocen interacciones con el plasma.
- Conservación entre 2 y 8°C 24 h.
- Para una mayor conservación, congele las muestras a -20°C.
- Congelar y descongelar las muestras una vez no afecta en absoluto los resultados del ensayo.
- Antes de utilizar las muestras almacenadas, mézclelas minuciosamente (mezclador vórtex).
- No utilice sueros lipémicos, hemolíticos, ictéricos, contaminados o con grumos.

Interferencias

No se han observado interferencias con bilirrubina a < 0,125 mg/mL, hemoglobina a < 500 mg/dL ni triglicéridos a <12,5 mg/mL que afecten a los resultados del ensayo.

Normas de realización del ensayo

- Cada uno de los componentes del kit se encuentra en proporciones óptimas. Si se intercambian o se mezclan componentes de distintos lotes, el fabricante no garantiza la fiabilidad de los resultados. Los números de lote de los componentes originales figuran en la parte inferior del envase del kit.
- Siga exactamente la secuencia indicada de lo ensayo.
- Ajuste el tiempo de medición a 1 minuto como mínimo.
- No utilice el kit con posterioridad a la fecha de caducidad impresa en el envase.
- Siga las directivas de ejecución de controles de calidad en laboratorios médicos.
- Evite la contaminación microbiana de los reactivos.

Realización del ensayo

Se recomienda ensayar por duplicado los estándares y las muestras.

Si se prevén resultados por encima del valor máximo del estándar, será necesario diluir la muestra (factor de dilución, p. Ej., 10, 100, 1.000).

Las muestras de líquido amniótico siempre deben diluirse. Durante las semanas de gestación (16.^a-19.^a) en las que el diagnóstico es relevante, bastará aplicar una dilución a 1:100 con el diluyente incluido en el kit. En casos patológicos, puede ser necesario utilizar una dilución superior (detecciones paralelas de dilución a 1:100 y 1:1000).

Como alternativa a la ejecución y valoración manuales, pueden emplearse los dispositivos automáticos de laboratorio adecuados, siempre bajo la responsabilidad del laboratorio.

1. Distribuya 25 μ L de estándar, de control o de muestra de paciente en el fondo de un tubo recubierto.
2. Añada 300 μ L de trazador y mezcle (vórtex).
3. Incube los tubos 3 h (\pm 5 min) a temperatura ambiente (18–25°C) en un agitador horizontal.*
4. Drene el líquido por aspiración.
5. Lave todos los tubos tres veces con 2 mL de agua purificada.
6. Mida la radioactividad (CPM) en todos los tubos (como mínimo 1 min).

Distribuya	25 μ L	de estándar, control o muestra de paciente en el fondo de un tubo de ensayo
Añada	300 μ L	de trazador
		Mezclar
Incube	3 h (\pm 5 min)	a T.A. (18–25 °C) en agitador*
		Aspirate
Lave	3 veces con 2 mL	Con agua purificada
Mida	1 min	con contador de centelleo gamma

– Mantenga constante la agitación.

Agitaciones óptimas:

Amplitud 20 mm = 150 rpm/min

Amplitud 10 mm = 220 rpm/min

Amplitud < 8 mm = 300 rpm/min

Análisis

Puede trazar manualmente la curva de calibración de la siguiente manera:

1. Determine los valores medios de CPM de cada par de tubos de ensayo (ensayo por duplicado).
2. Los valores medios de CPM de cada uno de los estándares (B) se divide por el valor medio de CPM del estándar máximo (B_{max}) y se multiplica por 100 para obtener la fijación relativa porcentual de cada estándar ($\%B/B_{max}$).
3. En papel semilogarítmico, traslade las fijaciones relativas ($\%B/B_{max}$) de todos los estándares (eje Y) en función de sus concentraciones (UI/mL) correspondientes (eje X).
4. Mediante la curva de calibración, podrá leer directamente las concentraciones de las muestras a partir de las fijaciones relativas calculadas de forma correspondiente ($\%B/B_{max}$).

Si la radioactividad obtenida supera la del estándar máximo, deberá diluir las muestras y volver a realizar el ensayo. En caso de diluir las muestras, la concentración de suero real debe calcularse en función del factor de dilución. En el informe de control de calidad, se incluye un ejemplo de curva de calibración. Esta curva no debe emplearse para el cálculo de muestras desconocidas.

El cálculo automático de valores radioinmunológicos se realiza mediante una aproximación *spline*.

Control de calidad

Siga las directivas de ejecución de controles de calidad en laboratorios médicos.

Para comprobar la exactitud y la precisión de los resultados, deben emplearse sueros de control o grupos de sueros internos.

El control incluido en el kit está indicado para realizar controles de calidad internos. Este control deben emplearse en cada ensayo y manipularse del mismo modo que las muestras de pacientes.

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 varones sanos y mujeres no embarazadas (n=63) los niveles de AFP en suero no superan las 6 UI/mL (percentil 95). Los valores elevados indican actividad neoplásica.

Durante el embarazo, las concentraciones de AFP en el suero materno aumentan hasta la 28.^a-32.^a semana de gestación. Tras esta semana, se observa un descenso de los valores.

Los valores de AFP superiores al rango de referencia indican daños al feto. Estos niveles en el suero se comprueban mediante la detección de AFP en el líquido amniótico.

A partir del análisis de mujeres embarazadas sanas se han determinado los siguientes niveles de AFP en suero y en líquido amniótico** para el IRMA®-mat AFP.

Valores normales de AFP en los primeros estadios de gestación

Semana de gestación	AFP en suero materno		AFP en líquido amniótico**	
	(mediana UI/mL)	(n*)	(mediana UI/mL)	(n*)
15	26,7	236	17.083	15
16	28,0	236	14.679	107
17	34,1	236	12.532	135
18	38,4	236	10.075	106
19	41,9	236	8.381	37
20	60,0	236	6.877	24

** Los valores del líquido amniótico se calcularon empleando el ensayo LIAISON® AFP. Puesto que en ambos ensayos se utilizaron los mismos anticuerpos, los valores determinados con LIASON® AFP pueden considerarse indicativos.

Los valores de AFP pueden variar en función del método de laboratorio; por este motivo, cada laboratorio debe fijar su propio rango de referencia.

Limitaciones del proceso

Los pacientes con carcinomas pueden presentar valores de AFP dentro del rango normal.

En cambio, es posible que pacientes con enfermedades benignas, como la cirrosis hepática, la hepatitis o la tirosinemia, muestren niveles elevados de la proteína (8). Por eso, la detección de AFP está especialmente indicada para el control terapéutico durante el tratamiento o tras éste y para la constatación de resultados histológicos. El ensayo de detección de AFP no puede utilizarse por sí solo para el cribado de tumores.

Puesto que el ensayo IRMA-mat® AFP no proporciona ningún dato concluyente para el diagnóstico de la trisomía 21, no se recomienda emplear esta prueba en el “triple screening”.

En todos los ensayos en las que se incuban en una fase líquida antígenos junto con anticuerpos inmovilizados y anticuerpos marcados, es posible que las muestras que contengan concentraciones extremadamente elevadas del antígeno arrojen valores inferiores al estándar máximo. En el caso del ensayo IRMA-mat® AFP, esto ocurre a concentraciones que sobrepasen las 30 000 IU/mL. Si se sospecha que se ha producido este fenómeno, debe repetirse la medición a una dilución superior de la muestra (p. Ej.: 10, 100 ó 1.000 veces más).

HAMA

Las muestras de pacientes que contengan anticuerpos humanos antimurinos (HAMA), pueden producir, en un principio, resultados falsamente altos o bajos. En este ensayo hay sustancias que neutralicen los HAMA. De todos modos, no queda totalmente excluido que este hecho afecte a los resultados del ensayo. Este tipo de muestras no debe utilizarse con el IRMA-mat® AFP.

Datos analíticos

Calibración

El IRMA-mat® AFP se calibra mediante el estándar de referencia MRC 72/225.

1ng AFP = 0.83 IU AFP (MRC 72/225)

1IU AFP (MRC 72/225) = 1.21 ng AFP

Rango de medición

El rango de medición es de 2-600 UI/mL.

Efecto "hook" de dosis alta

No se ha observado un efecto *hook* de dosis alta en las concentraciones hasta 30.000 UI/mL.

Precisión

Variación intra-ensayo			Variación inter-ensayo		
Valor medio (UI/mL)	CV (%)	n=	Valor medio (UI/mL)	CV (%)	n=
19	2,6	11	11	6,9	11
99	2,8	11	106	4,5	11
338	1,8	11	170	4,2	11

Sensibilidad analítica

El límite inferior de detección está por debajo de 2,0 UI de AFP/mL. Este límite inferior de detección se define como un valor que supera el estándar cero para tres desviaciones estándar; es la concentración de AFP mínima con significancia estadística que puede diferenciarse de cero.

Especificidad

Se han detectado reacciones cruzadas con mitomicina C, doxorubicina y fluorouracil en uso terapéutico.

Dilución

Se diluyó y se midió el suero de un paciente. Estos valores se compararon con los valores esperados obtenidos por regresión lineal.

Concentración de partida: 457,5 UI/mL

Dilución	Valor obtenido (UI/mL)	Valor esperado (UI/mL)	Recuperación (%)
1 : 1,25	368	366	101
1 : 2,5	202	183	110
1 : 5	100	92	109
1 : 10	50	46	109

Recuperación

Para la recuperación, se enriqueció el suero de un paciente con bajo contenido de AFP con distintas cantidades de AFP y se midieron los resultados.

Concentración de partida: 3,4 UI/mL

Valor obtenido (UI/mL)	Valor esperado (UI/mL)	Recuperación (%)
253	252	100
197	202	97
154	153	101
52	53	98



DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue, P.O. Box 285,
Stillwater, MN 55082-0285 U.S.A.
Phone: 651-439-9710 – Fax: 651-351-5669



IRMA-mat[®] AFP

Felhasználói utasítás

REF 324.471

100 teszt

Magyar

IVD

Kizárólag szakmai használatra!

Felhasználási terület

In vitro diagnosztikai teszt az alfa fetoprotein (AFP) kvantitatív meghatározásához humán szérumból és magzatvízből terhesség monitorozására és tumoros betegek monitorozására. Az assay karakterisztikája nem alkalmas a triszómia 21 diagnosztikájára.

A teszt áttekintése és magyarázata

Az alfa fetoprotein egy makromolekuláris glikoprotein (molekula tömege megközelítőleg 68,000) amely egy szimpla polipeptid láncból áll. Az AFP, mely az onkofetal proteinek csoportjába tartozik, a petehártyában és a magzati májban termelődik.

Az onkológiában az AFP meghatározásnak jelentősége van májsejt karcinómában (1, 5) csírasejt tumorban (a here non-szeminomatosus tumora; ovárium endodermális öböl tumora) (3, 6, 7) és a terhesség monitorozásában (2, 4). A terhesség ideje alatt az anyai vér AFP szintje folyamatosan nő. A maximális értéket a terhesség 28-32. hete között éri el, majd a szint a szülésig csökken. A magzatvízben a terhesség 13-15. hetén éri el a maximumot. A terhesség korai szakaszában az emelkedett AFP szint velőcső defektusát jelzi (nyitott gerinc, anencephalia).

A szérum AFP meghatározása alkalmas a terápia monitorozására és értékes tájékoztatást nyújt karcinómás betegek kezelésének sikerességéről, illetve a visszaesés lehetőségéről.

Meghatározás elve

Szendvics típusú immunoradiometrikus assay, mely két magas specificitású monoklonális antitestet tartalmaz szolid fázishoz kötve (bevonatos cső) és a tracerben. A beteg mintákban és kalibrátorokban jelenlévő AFP kötődik a teszt csövek falán kötött antitestekhez és a tracer antitestekhez. A tracer felesleg eltávolítása mosási lépéssel történik, a cső falán fennmaradó radioaktivitás szcintillációs gammaszámlálóval mérhető.

TARTALOM

Meghatározások	100
¹²⁵ I-anti-AFP, monoklonális (egér), piros radioaktivitás (kBq / μ Ci)	33 mL < 424 /11.5
7 kalibrátor A-G (0.6 mL) humán szérum albuminban (A megfelelő koncentráció valamennyi üveg címkéjén fel van tüntetve)	1 készlet
Hígító (0 IU/mL) foszfát pufferben (koncentrátum)	2 x 11 mL
Teszt csövek, anti-AFP bevonattal, monoklonális (egér)	2 x 50
Kontroll szérum, humán, liofilizált	0.6 mL
Minőségbiztosítási tanúsítvány	1

Egyéb szükséges anyagok

- Mikropipetta (25 µL, 300 µL) egyszer használatos műanyag hegygel
- Vortex mixer
- Manuális, vagy automata mosó leszívó egységgel
- Horizontális rázó
- Szcintillációs gammaszámláló
- Automata analízátor rendszer, ha rendelkezésre áll
- Bevonatmentes polisztirol cső a szérumok és kontrollok hígításához
- Desztillált víz

Figyelmeztetések és óvintézkedés

Humán eredetű anyagokat tartalmazó reagensek

Potenciális infektológiai forrásként kezelendő

Minden szérum/plazma donor egység a U.S. FDA szabályai szerint ki lett vizsgálva és negatív eredményt adott HbsAg-re, HCV antitestre és HIV 1/2 antitestre nézve. Bár az ellenőrzés nagy pontossággal törénik nem garantálható, hogy valamennyi fertőző tényező kimutatásra kerül. A készlet tartalmaz olyan humán eredetű anyagokat is amelyek nem esnek tesztelés alá. Mivel nem ismert olyan metodika, amely teljes biztonsággal kizárja a hepatitis B vírus (HBV), hepatitis C vírus (HCV), Human Immunodeficiency Virus (HIV) vagy egyéb infektológiai ágens jelenlétét, minden humán eredetű anyagot különösen nagy óvintézkedések mellett kell a laboratóriumban kezelni a U.S. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health Manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," 4th., May 1999 vagy későbbi előírásainak megfelelően.

I-125 tartalmú reagensek

Ez a készlet olyan I-125 tartalmú anyagokat tartalmaz, melyek radioaktivitása nem haladja meg a 11,5 µCi (424 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 körülhatárolt, 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 kilöttyen, fel kell törölni, majd alkáli detergensevel, vagy radioaktivitást dekontamináló oldattal kell felmosni. Az üvegedényeket 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 irányítás alá esik.

Figyelmeztetés: A készlet olyan anyagokat tartalmaz, amelyet a Kaliforniai Államban rákkeltőnek minősítenek.

Megjegyzés: A csomagolás mellékletén feltüntetett radioaktivitás érték némileg eltér a dobozon és a tracer üvegse címkéjén feltüntetett radioaktivitás értékektől. A dobozon és a tracer-es üveg címkéjén feltüntetett érték a kalibráció idején mért aktuális radioaktivitást mutatja, míg a csomagolás mellékleteként feltüntetett érték a készlet teoretikus radioaktivitását adja meg.

Na-azid tartalmú reagensek

Figyelmeztetés: A készlet néhány reagense Na-azid-ot tartalmaz. A Na-azid ólom és réz tartalmú vízvezetékekkel reakcióba lépve robbanásveszélyes fém-azidokat képez. A hulladékot bő vízzel eressze le a felszabaduló azidok kitapadásának 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

Hagyja valamennyi teszt komponens szobahőmérsékletre melegedni (18–25°C) a teszt elvégzése előtt, majd keverje fel alaposan (Kerülje a habképződést).

Nyissa ki óvatosan a kontrollt és oldja fel 0.6 mL desztillált vízben. (Kerülje a habképződést). Ellenőrizze, hogy a kupakon lerakódott anyagok feloldódása is teljes mértékben megtörténik.

Oldja fel a 20 hígító koncentrátumot 100 mL desztillált vízben.

Reagensek tárolása

Feloldott kontrollok: 1 hét 2-8°C-on, vagy 4 hét – 20°C-on.

Tárolja valamennyi reagenst 2–8°C-on a csomagolás címkéjén feltüntetett lejárati ideig.

- **Tárolja állítva a reagenseket.**
- **Tartsa távol közvetlen fényhatástól.**

Mintavétel és tárolás

- Standard eljárásnak megfelelő mintavételt igényel.
- A minta: szérum, magzatvíz; plazma zavaró hatása nem ismert.
- Tárolás 2 – 8°C: 24 óra.
- Hosszabb ideig történő tárolás: fagyasztás -20°C-ra vagy az alá.
- a minták egyszeri fagyasztása – olvasztása az eredményeket nem befolyásolja.
- A tárolt minták használat előtt alaposan felkeverendők (vortex mixer).
- Ne használjon agglutinált, lipémiás, hemolizált, icterikus, vagy szennyezett mintákat.

Interferáló tényezők

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

Módszer leírás

- A különböző készletek egyes komponenseinek összemérése nagy körültekintést igényel. Különböző LOT számú komponensek keverése, összecserélése a mérés pontosságának bizonytalanságához vezet. Ellenőrizze valamennyi komponens LOT-számát.
- Szigorúan kövesse az utasításokat!
- A gamma számláló mérési idejét legkevesebb 1 percre kell beállítani.
- Ne használja a kit-et a csomagoláson jelzett lárjáratit időt követően!
- Tartsa szem előtt a diagnosztikai laboratóriumok minőségbiztosítási irányelveit.
- Óvja a reagenseket a mikrobiális szennyeződésektől.

Teszt Protokoll

Javasolt a kalibrátorok és a minták duplikátumban történő mérése.

Amennyiben a várt érték magasabb a legnagyobb koncentrációjú kalibrátor értékénél, a mintát a hígítóval tovább kell hígítani (pl.: 10, 100, 1000-szeres faktorial).

A magzatvizet mindig hígítani kell. A terhesség diagnosztikailag jelentősséggel bíró heteiben (16-19. hét között) 1:100 hígítás elegendő. Patológias esetekben ennél nagyobb mértékű hígítás is lehetséges (párhuzamosan 1:100 és 1:1000 hígítás).

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

1. Pipettázzon 25 µL kalibrátort, kontrollt, beteg mintát a bevonatos csövek alá.
2. Adjon hozzá 300 µL ¹²⁵I-anti-AFP-t és keverje össze (vortex keverő).

3. Inkubálja a csöveket, 3 órát (± 5 perc) szobahőmérsékleten ($18-25^{\circ}\text{C}$) horizontális rázón.*
4. Szívja le a folyadékot.
5. Mossa a csöveket 3 x 2 mL desztillált vízzel.
6. Mérje le valamennyi cső radioaktivitását (CPM, legalább 1 perc)

25 μL	Kalibrátor, kontroll vagy beteg minta pipettázás a teszt csövek aljára.
300 μL	^{125}I -anti-AFP bemérés
	Keverés
3 óra (± 5 perc)	Inkubálás horizontális rázón szobahőmérsékleten ($18-25^{\circ}\text{C}$)*
	Leszívás
3 x 2 mL	Mosás desztillált vízzel
1 perc	Mérés (szcintillációs gammaszámláló)

* Tartsa a keverési értékeket egyenletesen!

Optimum:

Amplitudó 20 mm = 150 rpm

Amplitudó 10 mm = 220 rpm

Amplitudó < 8 mm = 300 rpm

Eredmény kiértékelés

A kalibrációs görbe manuálisan a következőképpen határozható meg:

1. Határozza meg valamennyi cső 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 relatív beépülési százalékát ($\%B/B_{\text{max}}$).
3. Semi-log papíron ábrázolja a relatív beépülési százalékokat ($\%B/B_{\text{max}}$) az Y-tengelyen a hozzátartozó koncentrációk (U/mL) függvényében (X-tengely).
4. Olvassa le a minták koncentrációját (IU/mL) a kalibrációs görbéről a megfelelő relatív beépülési százalék alapján ($\%B/B_{\text{max}}$).

Azokat a mintákat, amelyek értéke magasabb, mint a legmagasabb kalibrátor koncentrációja, meg kell hígítani hígítóval, s újból le kell mérni. Ezeknek a mintáknak a végső eredményének a meghatározásakor a hígítási faktort figyelembe kell venni. A QC-tanusítványban példát láthat a mestergörbére. Ezt a görbét kell használni az ismeretlen minták koncentrációjának meghatározásához.

Készülékkel történő radioimmunológiai mérések kiértékelésénél spline illesztést kell alkalmazni.

Minőségellenőrzés

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 úgy kezelendők, mintha beteg minták lennének. A várt kontroll tartomány a kontroll címkéjén van feltüntetve.

Minden egyes kontroll koncentrációtartománya jelentésre kerül az elemzési igazoláson, és jelzi azokat a DiaSorin által a kontrollértékek számára megállapított határértékeket, amelyek megbízható assay-futtatások során szerezhetők meg.

Eredmények interpretálása

Egészséges férfi és nem terhes nő (n=63) AFP értékei nem emelkedik 6 IU/mL felé (95 %-ban.) Emelkedett szint neoplasztikus aktivitásra utal.

Terhesség alatt, az anyai szérumban az AFP emelkedik, maximális értékét a terhesség 28 és 32 hete között éri el. A 32 hetet követően az értékek csökkenése figyelhető meg.

A referencia tartományon kívül eső AFP érték magzati rendellenességet jelez. Emelkedett AFP koncentráció velőcső defektust jelez. A szérumban a magzatvíz AFP koncentrációjának mérésével ellenőrizheti.

A következő értékek IRMA - mat[®] AFP assay-vel lettek meghatározva szérumban és magzatvízben**.

Normál AFP értékek a terhesség korai szakaszában

Terhesség hete	AFP az anyai szérumban		AFP a magzatvízben**	
	(Középtérték IU/mL)	(n*)	(Középtérték IU/mL)	(n*)
15	26.7	236	17,083	15
16	28.0	236	14,679	107
17	34.1	236	12,532	135
18	38.4	236	10,075	106
19	41.9	236	8,381	37
20	60.0	236	6,877	24

** A magzatvíz értékeket LIAISON[®] AFP assay-vel határozták meg. Mindkét assay ugyanazon antitestet használ, az értékek meghatározásához a LIAISON[®] AFP kontroll értékeket vették figyelembe. Az AFP értékek laboratóriumi metodikától függenek, ezért javasolt a saját referencia tartomány felállítását.

Az eljárás korlátai

Karcinómában szenvedő betegek AFP értéke a normál tartományba eshet.

AFP koncentráció emelkedik benignus betegségekben, mint máj cirrhózisban, hepatitiszben, thirozinémiában (8). Az AFP meghatározást indikálhatja a terápia monitorozása, vagy hisztológiai eredmények megerősítése. Az AFP önmagában nem elegendő kritériuma a tumor meglétének.

Nincs adat IRMA-mat[®] AFP-re Down szindróma diagnózisára vonatkozóan, használata nem javasolt tripla tesztben.

Minden olyan tesztben, amelyben az antigén együtt inkubálódik a jelölt antitesttel és egy immobilizált folyadékban, vagy gyöngyhez kötött jelenlévő antitesttel, fennáll a veszélye, hogy a minta extrém magas koncentrációval rendelkezik az antigénre nézve és ezek értéke a legmagasabb kalibrátor értéke alatt marad. Az a jelenség IRMA-mat[®] AFP esetén 30,000 IU/mL meghaladó koncentráció esetén következik be. Gyanúsnak vélt eredmény esetén a mintát meg kell hígítani (például 10, 100, 1000-szeresre) és a mérést meg kell ismételni.

HAMA

A beteg minták humán anti-egér antitesteket tartalmaznak (HAMA), melyek fals emelkedést, vagy csökkenést eredményezhetnek. Bár HAMA-neutralizáló ágens kerül hozzáadásra, rendkívül magas HAMA szérumban koncentráció esetén befolyásolhatja az eredményeket. Ezeknél a mintáknál nem használható az IRMA-mat[®] AFP assay.

Analitikai adatok

Kalibráció

IRMA-mat[®] AFP hitelesítéséhez MRC 72/225 Referencia Standardot használtak.

$$1\text{ng AFP} = 0.83\text{ IU AFP (MRC 72/225)}$$

$$1\text{IU AFP (MRC 72/225)} = 1.21\text{ ng AFP}$$

Mérési tartomány

A mérési tartomány 2 - 600 IU/mL.

High-dose hook

High-dose hook effektus nem figyelhető meg 30,000 IU/mL AFP koncentrációig.

Precízió

Intra-assay			Inter-assay		
Mért értékek (IU/mL)	CV (%)	n=	Mért értékek (IU/mL)	CV (%)	n=
19	2.6	11	11	6.9	11
99	2.8	11	106	4.5	11
338	1.8	11	170	4.2	11

Analitikai érzékenység

A legalacsonyabb detektálási határ < 2.0 IU AFP/mL. Ez a detektálási határ a 3 SD-vel haladja meg a zéró standard értéket; ez a legkisebb AFP koncentráció, amelynek a zéró standardtól való eltérése már statisztikailag szignifikáns.

Specifitás

Terápiás tartományban nincs keresztreakció mitomycin-C, doxorubicin vagy fluorouracil-al.

Hígítás

Beteg szérumok kerültek hígításra, majd mérésre. A mért és várt értékeket összehasonlítása lineáris regresszióval történt.

Eredeti koncentráció: 457.5 IU/mL

Hígítás	Mért értékek (IU/mL)	Várt értékek (IU/mL)	Visszanyerés (%)
1 : 1.25	368	366	101
1 : 2.5	202	183	110
1 : 5	100	92	109
1 : 10	50	46	109

Visszanyerés

Alacsony AFP tartalmú beteg szérumokhoz különböző mennyiségű AFP került hozzáadásra és mérésre.

Eredeti koncentráció: 3.4 IU/mL

Mért értékek (IU/mL)	Várt értékek (IU/mL)	Visszanyerés (%)
253	252	100
197	202	97
154	153	101
52	53	98



DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue, P.O. Box 285,
Stillwater, MN 55082-0285 U.S.A.
Phone: 651-439-9710 - Fax: 651-351-5669



IRMA-mat[®] AFP

REF 324.471

100 Προδιαγραφές

Οδηγίες χρήσης

Ελληνικά

IVD

Μόνον για χρήση από εξειδικευμένο προσωπικό!

Χρήση

Εξέταση *in vitro* για τον ποσοτικό προσδιορισμό της α-εμβρυακής πρωτεΐνης (AFP) στον ανθρώπινο ορό και στα αμνιακά υγρά, για την παρακολούθηση της εγκυμοσύνης και κατά τη διάρκεια αγωγής σε καρκινοπαθείς ασθενείς. Η εξέταση δεν έχει αξιολογηθεί στη διάγνωση της τρισωμίας 21.

Σύνοψη και επεξήγηση της εξέτασης

Η α-εμβρυακή πρωτεΐνη είναι μία γλυκοπρωτεΐνη υψηλής μοριακής σύνθεσης (MG περ. 68.000), η οποία αποτελείται από μία και μοναδική αλυσίδα πολυπεπτιδίων. Η AFP σχηματίζεται στη λεκιθική μεμβράνη και στο ήπαρ του εμβρύου και ανήκει στην ομάδα των καρκινοεμβρυϊκών πρωτεϊνών.

Η AFP προσδιορίζεται στην ογκολογία, σε καρκινικά κύτταρα του ήπατος (1,5) σε όγκους των γεννητικών κυττάρων (3,6,7) (μη ημι-ινομυωματικοί όγκοι των όρχεων, ενδοδερμικός όγκος των ωοθηκών) και στην παρακολούθηση της εγκυμοσύνης (2,4). Κατά τη διάρκεια της κύησης αυξάνονται σταθερά τα επίπεδα AFP στο μητρικό αίμα. Μετά την κορύφωση των τιμών στην 28^η έως 32^η εβδομάδα της κύησης (SSW) αυτές αρχίζουν να μειώνονται και πάλι μέχρι τον τοκετό. Στα αμνιακά υγρά η μέγιστη τιμή διαπιστώνεται την 13^η – 15^η εβδομάδα κύησης. Οι αυξημένες συγκεντρώσεις AFP στο πρώιμο στάδιο της κύησης υποδηλώνουν βλάβες του νωτιαίου μυελού (Spina bifida, ανεγκεφαλία).

Ο προσδιορισμός AFP στον ορό παρέχει, στον έλεγχο της εξέλιξης και της θεραπείας σε καρκινοπαθείς ασθενείς σημαντικά στοιχεία για την επιτυχία μίας θεραπείας ή για την εμφάνιση υποτροπών.

Αρχή της εξέτασης

Ανοσοραδιομετρική μέθοδος, που βασίζεται στην "αρχή Sandwich". Για την επίστρωση της σταθερής φάσης (Coated Tube) και του ιχνηθέτη χρησιμοποιούνται δύο διαφορετικά ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα.

Το αντίσωμα επικάλυψης και το αντίσωμα ιχνηθέτη αντιδρούν στο ίδιο βήμα αντίδρασης με το AFP από το υλικό βαθμονόμησης και το δείγμα. Το μη συζευγμένο υλικό απομακρύνεται σε ένα βήμα πλύσης. Μετά την πλύση από τον ελεύθερο ιχνηθέτη, μετριέται η συζευγμένη στο τοίχωμα του σωληναρίου ραδιενέργεια (μετρητής σπινθηρισμού γάμμα).

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Καθορισμοί	100
¹²⁵ I-anti-AFP, μονοκλωνικό (ποντίκι), κόκκινο	33 mL
Δραστηριότητα (kBq / μCi)	< 424 /11.5
7 υλικά βαθμονόμησης A-G (0,6 mL) σε ανθρώπινο λευκωματίνη ορού (βλέπε αναφορά ποιοτικού ελέγχου για τις συγκεντρώσεις)	1 σετ
Διαλυτικός παράγοντας (0 IU/mL) σε διάλυμα φωσφορικού άλατος (συμπύκνωμα)	2 x 11 mL
Σωληνάκια εξέτασης, επικαλυμμένα με anti-AFP, μονοκλωνικό (ποντίκι)	2 x 50
Υλικό ελέγχου, ανθρώπινο, λυόφιλο.	0.6 mL
Αναφορά ποιοτικού ελέγχου	1

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Μικροπιπέτες (25 µL, 300 µL) με ανταλλακτικά, πλαστικά ρύγχη
- Αναδευτήρας ταλάντωσης
- Χειροκίνητη ή αυτόματη συσκευή πλύσης με σύστημα απορρόφησης
- Επίπεδος αναδευτήρας
- Μετρητής σπινθηρισμού γάμμα
- εναλλακτικά ένα κατάλληλο μηχάνημα εργαστηρίου, εάν υπάρχει
- μη επικαλυμμένα σωληνάρια πολυστυρόλης για την αραίωση των ορών και των υλικών ελέγχου
- Κεκαθαρμένο νερό

Προληπτικά μέτρα

Αντιδραστήρια που περιέχουν υλικό ανθρώπινης προέλευσης

Χειριστείτε ως εάν ήταν δυνητικώς μολυσματικά.

Κάθε μονάδα δότη ορού/πλάσματος που έχει χρησιμοποιηθεί για την προετοιμασία του παρόντος προϊόντος έχει δοκιμαστεί με μέθοδο εγκεκριμένη από την Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) των Η.Π.Α. και βρέθηκε μη αντιδραστική ως προς την παρουσία HBsAg, αντισώματος στον ιό HCV και αντισώματος στον ιό HIV 1/2. Αν και οι μέθοδοι αυτές είναι εξαιρετικά ακριβείς, δεν εγγυώνται την ανίχνευση όλων των μολυσματικών μονάδων. Το παρόν προϊόν ενδεχομένως να περιέχει και άλλο υλικό ανθρώπινης προέλευσης για το οποίο δεν υπάρχει εγκεκριμένη δοκιμή. Επειδή καμία γνωστή μέθοδος δοκιμής δεν μπορεί να προσφέρει πλήρη διαβεβαίωση ότι απουσιάζουν ο ιός της ηπατίτιδας Β (HBV), ο ιός της ηπατίτιδας C (HCV), ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV) ή άλλοι μολυσματικοί παράγοντες, ο χειρισμός όλων των προϊόντων που περιέχουν υλικά ανθρώπινης προέλευσης θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με καλές εργαστηριακές πρακτικές χρησιμοποιώντας τις κατάλληλες προφυλάξεις, όπως περιγράφονται στο εγχειρίδιο «Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories», 4η έκδοση, Μάιος 1999 ή την τρέχουσα έκδοση, των U.S. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health (Κέντρα για τον Έλεγχο και Πρόληψη Νόσων/Εθνικά Ιδρύματα Υγείας των Η.Π.Α.).

Αντιδραστήρια που περιέχουν ιώδιο 125

Το kit αυτό περιέχει ραδιενεργό υλικό το οποίο δεν υπερβαίνει τα 11.5 µCi (424 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, κτηνιάτρους που εξασκούν 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) της πολιτείας στην 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 σε 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 υάλινα σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν πρέπει να εκπλυθούν καλά με νερό πριν από την πλύση άλλων εργαστηριακών υάλινων 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 αδειάς σας.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Το προϊόν αυτό περιέχει μια χημική ουσία η οποία είναι γνωστό από την πολιτεία της Καλιφόρνιας 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 των αντιδραστηρίων

Φέρτε τα υλικά πριν από την έναρξη της εξέτασης σε θερμοκρασία δωματίου (18–25°C) και ανακινήστε καλά. (αποφύγετε τη δημιουργία αφρού).

Ανοίξτε προσεκτικά το υλικό ελέγχου και προετοιμάστε το με 0,6 mL αποστ. νερό. (αποφύγετε τη δημιουργία αφρού). Λάβετε υπ' όψιν σας ότι θα αναμιχθεί μαζί και το λυόφιλο υλικό που έχει προσκολληθεί στα πώματα.

Αραιώστε 20 mL διαλυτικού παράγοντα – συμπυκνώματος με 100 mL αποστ. νερό.

Αποθήκευση των αντιδραστηρίων

Παρασκευασμένο υλικό ελέγχου: 1 εβδομάδα στους 2–8°C ή 4 εβδομάδες στους – 20°C.

Αποθηκεύετε όλα τα άλλα αντιδραστήρια στους 2–8°C. Τα υλικά διατηρούνται μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη συσκευασία.

- Αποθηκεύστε σε όρθια θέση

- Προστατέψτε από την απευθείας έκθεση στο φως

Υλικό ελέγχου, αποθήκευση και παρασκευή υλικού ελέγχου

- Το υλικό ελέγχου παρασκευάζεται σύμφωνα με τις τυπικές διατάξεις.

- Υλικό ελέγχου: Ορός, αμνιακό υγρό. Παρενέργειες λόγω πλάσματος δεν είναι γνωστές.

- Αποθήκευση στους 2 - 8°C: 24 ώρες.

- Για τη μακροχρόνια φύλαξη του υλικού ελέγχου καταψύξτε το στους -20°C.

- Η ψύξη και το ξεπάγωμα του υλικού για μία φορά δεν επηρεάζει τα αποτελέσματα της εξέτασης.

- Ανακινήστε πολύ καλά το υλικό ελέγχου πριν από τη χρήση (αναδευτήρας Vortex).

- Δεν επιτρέπεται να χρησιμοποιηθούν συμπυκνωμένοι, λιπαιμικοί, αιμολυτικοί, ικτερικοί ή μολυσμένοι οροί.

Αρνητικές επιδράσεις

Δεν παρατηρήθηκαν αρνητικές επιδράσεις στα αποτελέσματα των εξετάσεων από χολερυθρίνη < 0,125 mg/mL, αιμοσφαιρίνη < 500 mg/dL ή τριγλυκερίδια < 12,5 mg/mL.

Υποδείξεις εκτέλεσης

- Τα υλικά του σετ έχουν προσαρμοστεί ιδανικά μεταξύ τους. Σε περίπτωση αντικατάστασης ή ανάμιξης υλικών διαφορετικών παρτίδων ο κατασκευαστής δεν εγγυάται πλέον την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων. Ο αριθμός παρτίδας των αυθεντικών υλικών αναγράφεται στο κάτω μέρος της συσκευασίας του κιτ.

- Τηρήστε οπωσδήποτε την αναφερόμενη σειρά χορήγησης.

- Ρυθμίστε το χρόνο μέτρησης σε τουλάχιστον 1 λεπτό.

- Μη χρησιμοποιείτε αυτόν τον εξοπλισμό εξέτασης μετά από την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης.

- Τηρήστε τις προδιαγραφές εκτέλεσης ποιοτικού ελέγχου σε ιατρικά εργαστήρια.

- Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων.

Εκτέλεση της εξέτασης

Προτείνεται ο διπλός καθορισμός των υλικών βαθμονόμησης και ελέγχου.

Εάν αναμένονται τιμές μεγαλύτερες από το ανώτατο όριο βαθμονόμησης, τότε το υλικό ελέγχου θα πρέπει να αραιωθεί με διαλυτικό παράγοντα (συντελεστής αραιώσης π.χ. 10, 100, 1000).

Τα δείγματα αμνιακού υγρού θα πρέπει πάντοτε να αραιώνονται, όπου στις σημαντικές για τη διάγνωση εβδομάδες κύησης (16^η – 19^η εβδομάδα) αρκεί μία αραιώση σε αναλογία 1:100, με το διαλυτικό παράγοντα που περιλαμβάνεται στο κιτ. Στις παθολογικές περιπτώσεις ενδέχεται να απαιτείται υψηλότερη αραιώση. (παράλληλοι προσδιορισμοί αραιώσεων με αναλογία 1:100 και 1:1000).

Εναλλακτικά με τη χειροκίνητη εκτέλεση και αξιολόγηση, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ένα κατάλληλο μηχάνημα εργαστηρίου, υπ' ευθύνη του εργαστηρίου.

1. Χορηγήστε 25 μL υλικού βαθμονόμησης, υλικού ελέγχου ή δείγματος της ασθενούς στον πυθμένα ενός επικαλυμμένου σωληναρίου εξέτασης.
2. Προσθέστε 300 μL ¹²⁵I-anti-AFP, ανακινήστε (αναδευτήρας Vortex)
3. Επώαστε τα σωληνάκια για 3 ώρες (± 5 λεπτά) σε θερμοκρασία δωματίου (18–25°C) επάνω σε έναν επίπεδο αναδευτήρα.*
4. Απορροφήστε το υγρό.
5. Πλύνετε όλα τα σωληνάκια 3 φορές με 2 mL Κεκαθαρμένο νερό.
6. Μετρήστε τη ραδιενέργεια (CPM) σε όλα τα σωληνάκια (τουλάχιστον 1 λεπτό).

Προσθέστε 25 μL	υλικού βαθμονόμησης, υλικού ελέγχου ή δείγματος της ασθενούς στον πυθμένα ενός σωληναρίου εξέτασης
Προσθέστε 300 μL	¹²⁵ I-anti-AFP
για 3 ώρες (± 5 λεπτά)	Ανακινήστε επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου (18–25°C), σε αναδευτήρα*
Πλύνετε 3 φορές με 2 mL	Απορρόφηση με Κεκαθαρμένο νερό
1 λεπτό	Μέτρηση (μετρητής σπινθηρισμού γάμμα)

* Διατηρήστε σταθερές τις συνθήκες ανάδευσης!

Ιδανικές συνθήκες:

Εύρος 20 mm = 150 rpm

Εύρος 10 mm = 220 rpm

Εύρος < 8 mm = 300 rpm

Αξιολόγηση

Η καμπύλη του υλικού βαθμονόμησης μπορεί να συνταχθεί ως εξής:

1. Καθορισμός της μέσης τιμής CPM για κάθε ζεύγος σωληναρίων εξέτασης (διπλός καθορισμός)
2. Οι μέσες τιμές CPM των μεμονωμένων υλικών βαθμονόμησης (B) διαιρούνται με τη μέση τιμή CPM της μέγιστης τιμής του υλικού βαθμονόμησης (B_{max}) και πολλαπλασιάζονται με το συντελεστή 100, για να υπολογιστεί η ποσοστιαία σχετική δέσμευση (%B/B_{max}) για κάθε υλικό βαθμονόμησης.
3. Σε ημιλογαριθμικό χαρτί μεταφέρονται οι σχετικές δεσμεύσεις (%B/B_{max}) όλων των υλικών βαθμονόμησης (άξονας Y) συναρτήσει των αντίστοιχων συγκεντρώσεων (IU/mL) (άξονας X).
4. Οι συγκεντρώσεις των υλικών βαθμονόμησης μπορούν βάσει των υπολογισμένων σχετικών δεσμεύσεων (%B/B_{max}) να διαβαστούν απευθείας από την καμπύλη.

Εάν η ραδιενέργεια που μετρήθηκε κυμαίνεται πάνω από την ανώτατη τιμή του υλικού βαθμονόμησης, τότε τα υλικά βαθμονόμησης θα πρέπει να αραιωθούν με διαλυτικό παράγοντα και να επαναληφθεί η εξέταση. Σε αραιωμένα υλικά βαθμονόμησης θα πρέπει η πραγματική συγκέντρωση του ορού να υπολογιστεί ανάλογα με το συντελεστή αραιώσης. Ένα παράδειγμα καμπύλης παρατίθεται στην αναφορά του ποιοτικού ελέγχου. Αυτή η καμπύλη δεν επιτρέπεται να χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό άγνωστων υλικών βαθμονόμησης.

Ο υπολογισμός των ραδιο-ανοσομετρικών τιμών βάσει οργάνων πραγματοποιείται με τη βοήθεια προσέγγισης καμπυλών Spline.

Ποιοτικός έλεγχος

Τηρήστε τις προδιαγραφές εκτέλεσης ποιοτικού ελέγχου σε ιατρικά εργαστήρια.

Για τον έλεγχο της ορθότητας και της ακρίβειας των αποτελεσμάτων προτείνεται να χρησιμοποιηθούν οροί ελέγχου ή οροί συγκέντρωσης.

Κατάλληλο για τον εσωτερικό ποιοτικό έλεγχο είναι το υλικό ελέγχου που περιλαμβάνεται στο κιτ. Το υλικό ελέγχου θα πρέπει υπάρχει σε κάθε εφαρμογή και να μεταχειρίζεται όπως και κάθε δείγμα ασθενούς.

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 υγιείς άνδρες και μη έγκυες γυναίκες (n=63) οι τιμές AFP στον ορό δεν ξεπερνούν τα 6 IU/mL (95%). Οι υψηλότερες τιμές υποδηλώνουν νεοπλασματικές δραστηριότητες.

Κατά τη διάρκεια της κύησης αυξάνονται οι συγκεντρώσεις AFP στον μητρικό ορό μέχρι την 28^η – 32^η εβδομάδα της κύησης. Στη συνέχεια παρατηρείται πτώση των τιμών.

Οι τιμές AFP που κυμαίνονται πάνω από την περιοχή αναφοράς υποδηλώνουν βλάβη του εμβρύου. Το εύρημα του ορού ελέγχεται με έναν προσδιορισμό AFP στο αμνιακό υγρό.

Στις μετρήσεις σε υγιείς, έγκυες γυναίκες διαπιστώθηκαν οι ακόλουθες τιμές στον ορό και στο αμνιακό υγρό** για το IRMA® - mat AFP.

Φυσιολογικές τιμές AFP στο πρώιμο στάδιο κύησης

Εβδομάδα κύησης	AFP στο μητρικό ορό		AFP στο αμνιακό υγρό**	
	(μέση τιμή IU/mL)	(n*)	(μέση τιμή IU/mL)	(n*)
15	26,7	236	17.083	15
16	28,0	236	14.679	107
17	34,1	236	12.532	135
18	38,4	236	10.075	106
19	41,9	236	8.381	37
20	60,0	236	6.877	24

** Οι τιμές στο αμνιακό υγρό λήφθηκαν με την εξέταση LIAISON® AFP. Επειδή και στις δύο εξετάσεις χρησιμοποιούνται τα ίδια αντισώματα, οι τιμές που μετρήθηκαν με το LIAISON® AFP μπορούν να θεωρηθούν ως τιμές αναφοράς.

Επειδή οι τιμές AFP διαφέρουν ανάλογα με την εργαστηριακή μέθοδο, προτείνεται κάθε εργαστήριο να συντάξει τη δική του περιοχή αναφοράς.

Περιορισμοί της διαδικασίας

Οι ασθενείς με καρκινώματα ενδέχεται να παρουσιάσουν τιμές AFP εντός της κανονικής περιοχής.

Σε καλοήθεις παθήσεις, όπως κίρρωση του ήπατος, ηπατίτιδα, τυροσιναιμία τα επίπεδα AFP ενδέχεται να είναι αυξημένα (8). Για το λόγο αυτό ο προσδιορισμός του AFP είναι κατάλληλος για το έλεγχο της θεραπείας μετά ή κατά τη διάρκεια της αγωγής, καθώς και για την επιβεβαίωση των ιστολογικών ευρημάτων. Η μέθοδος ανάλυσης AFP δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί μεμονωμένα για τη διαλογή του κακοήθους όγκου.

Επειδή με τη μέθοδο IRMA-mat® AFP δεν ήταν δυνατή η συγκέντρωση στοιχείων για τη διάγνωση της τρισωμίας 21, η εξέταση δεν προτείνεται για χρήση με τη Τριπλή Διαλογή (Triple-Screening).

Σε όλες τις εξετάσεις, στις οποίες γίνεται ταυτόχρονη επώαση του αντιγόνου με αδρανοποιημένα αντισώματα και με ιχνηθετημένα αντισώματα σε υγρή φάση, υπάρχει πιθανότητα τα δείγματα που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις του αντιγόνου, να οδηγήσουν σε τιμές μέτρησης που κυμαίνονται κάτω από το ανώτατο όριο του υλικού βαθμονόμησης. Στο IRMA-mat® AFP αυτό παρατηρείται σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται πάνω από 30.000 ng/mL. Εάν υπάρχει σχετική υποψία, θα πρέπει να επαναληφθεί η μέτρηση μετά από πρόσθετη αραιώση του δείγματος (π.χ. κατά 10, 100, 1000).

HAMA

Τα δείγματα ασθενών που περιέχουν το ανθρώπινο αντίσωμα ποντικού (HAMA), μπορούν να οδηγήσουν σε εσφαλμένες υψηλές ή χαμηλές τιμές. Στην εξέταση έγινε προσθήκη ουσιών που αδρανοποιούν το HAMA. Ωστόσο δεν μπορεί να αποκλειστεί τελείως η επιρροή στα αποτελέσματα της εξέτασης. Αυτά τα δείγματα δεν πρέπει να χρησιμοποιηθούν με το IRMA-mat® AFP.

Αναλυτικά στοιχεία

Βαθμονόμηση

Το IRMA-mat® AFP βαθμονομήθηκε με την εφαρμογή της μεθόδου Centacor MRC 72/225.

1ng AFP = 0.83 IU AFP (MRC 72/225)

1IU AFP (MRC 72/225) = 1.21 ng AFP

Περιοχή μετρήσεων

Η περιοχή μετρήσεων κυμαίνεται μεταξύ 2 -600 IU/mL.

Αδυναμία Αποκοπής από Υψηλή Δόση

Δεν παρατηρήθηκε φαινόμενο αδυναμίας αποκοπής από υψηλή δόση σε συγκεντρώσεις έως 30.000 IU/mL.

Ακρίβεια

Διακύμανση εντός και εκτός αναλύσεων Μέση τιμή (IU/mL)	CV (%)	n=	Διακύμανση εντός αναλύσεων Μέση τιμή (IU/mL)	CV (%)	n=
19	2,6	11	11	6,9	11
99	2,8	11	106	4,5	11
338	1,8	11	170	4,2	11

Αναλυτική ευαισθησία

Το κατώτατο όριο απόδειξης κυμαίνεται κάτω από 2,0 IU AFP/mL. Αυτό το όριο απόδειξης ορίζεται ως τιμή, η οποία κυμαίνεται τρεις αποκλίσεις άνω της μηδενικής βαθμονόμησης. Είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση AFP η οποία μπορεί να διαφοροποιηθεί στατιστικά από τη μηδενική τιμή.

Εξειδίκευση

Δεν παρατηρήθηκαν αντιδράσεις σε θεραπευτικές αγωγές με τα Mitomycin-C, Doxorubicin και Fluorouracil.

Γραμμικότητα αραιώσης

Ένας ορός ασθενούς αραιώθηκε με διαλυτικό παράγοντα και μετρήθηκε. Οι τιμές μέτρησης συγκρίθηκαν με τις ονομαστικές τιμές που υπολογίστηκαν με γραμμική παλινδρόμηση.

Συγκέντρωση εξόδου: 457,5 IU/mL

Αραιώση	Τιμή μέτρησης (IU/mL)	Ονομαστική τιμή (IU/mL)	Ανίχνευση (%)
1 : 1,25	368	366	101
1 : 2,5	202	183	110
1 : 5	100	92	109
1 : 10	50	46	109

Ανίχνευση

Ένας ορός ασθενούς με χαμηλή περιεκτικότητα AFP εμπλουτίστηκε με διάφορες ποσότητες AFP.

Συγκέντρωση εξόδου: 3,4 IU/mL

Τιμή μέτρησης (IU/mL)	Ονομαστική τιμή (IU/mL)	Ανίχνευση (%)
253	252	100
197	202	97
154	153	101
52	53	98

References – Bibliografia – Références – References – Bibliografia – Irodalom – Βιβλιογραφία

- 1 . Aoyagi Y. Carbohydrate-based measurements of alpha-fetoprotein in the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Glycoconjugate Journal* 1995; 12: 194-199
- 2 . Bock JL. Current Issues in Maternal Serum: Alpha-Fetoprotein Screening (Review Article). *Am J Clin Pathol* 1992; 97 : 541-554
- 3 . Brewer JA, Tank ES. Yolk sac tumors and alpha-fetoprotein in first year of life. *Urology* 1993; 42 (1): 79-80
- 4 . Brizot ML et al. First trimester maternal serum alpha-fetoprotein in fetal trisomies. *Br J Obstet Gynaec* 1995; 102: 31-34
- 5 . Burditt LJ et al. Detection of Hepatocellular Carcinoma-Specific Alpha-Fetoprotein by Isoelectric Focusing. *Cancer* 1994; 74 (1): 25-29
- 6 . Johnson PJ et al. Germ Cell Tumors Express a Specific Alpha-Fetoprotein Variant Detectable by Isoelectric Focusing. *Cancer* 1995; 75 (7): 1663-1668
- 7 . Mora J et al. Alpha-fetoprotein-Concanavalin A Binding as a Marker to Discriminate Between Germ Cell Tumours and Liver Diseases. *Eur J Cancer* 1995; 31A (13/14): 2239-2242
- 8 . Stránsky J et al. Assessment of Alpha-Fetoprotein in chronic HBsAg Carriers and in HBsAg Negative Cirrhosis of the Liver. *Sborník lékařsky* 1993;

SYMBOLS USED WITH IVD DEVICES
SIMBOLI USATI CON I DIAGNOSTICI IN VITRO
SYMBOLES UTILISÉS AVEC LES DIAGNOSTICS IN VITRO
MIT IN-VITRO-DIAGNOSTIKA GEBRAUCHTE SYMBOLE
SÍMBOLOS USADOS CON LOS DIAGNÓSTICOS IN VITRO
SÍMBOLOS UTILIZADOS COM OS DIAGNÓSTICOS IN VITRO
SYMBOLER SOM ANVÄNDS MED IN VITRO-DIAGNOSTIK
SYMBOLER SOM BRUGES VED IN VITRO-DIAGNOSTIK
JELMAGYARÁZAT IVD ESZKÖZÖKHÖZ
ΣΥΜΒΟΛΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΜΕΝΑ ΜΕ ΤΙΣ ΣΥΣΚΕΥΕΣ IVD

CONT.

Kit contents / Contenido del kit / Contenu de la trousse / Inhalt des Kits
 Inhalt des Kits / Contenido del kit / Conteúdo do dispositivo / Satsinnehåll
 Kittets indhold / Készlet tartalma / Περιεχόμενα συσκευασίας.

Ab ¹²⁵I

Tracer: antibody labelled with ¹²⁵I / Tracciante: anticorpi marcati con ¹²⁵I
 Traceur: anticorps marqués à l'¹²⁵I / Tracer: mit ¹²⁵J markierte Antikörper
 Trazador: anticuerpos marcados con ¹²⁵I
 Marcador: anticorpos marcados com ¹²⁵I
 Spårämne: antikroppar märkta med ¹²⁵I
 Tracer: antistoffer mærket med ¹²⁵I
 Tracer: ¹²⁵I-tel jelölt antitest
 Ιχνηθέτης: αντίσωμα σημασμένο με ¹²⁵I.

SORB

Solid phase (Coated tubes / Coated beads).
 Fase solida (Provette sensibilizzate / Sferette sensibilizzate).
 Phase solide (Tubes revêtues / Billes revêtues).
 Feste Phase (Beschichtete Röhrchen / Beschichtete Kugeln).
 Fase sólida (Tubos recubiertos / Bolas recubiertas).
 Fase sólida (Tubos revestidos / Bolas revestidas).
 Fast stadium (Belagda rör / Belagda kulor).
 Fast stadium (Sensibiliserede rør / sensibiliserede kugler).
 Szilárd fázis (bevonatos cső/ bevonatos gyöngy)
 Στερεά φάση (επικαλυμμένοι δοκιμαστικοί σωλήνες / επικαλυμμένα σφαιρίδια).

DIL

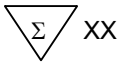
Sample diluent / Diluente campioni / Diluant pour échantillons
 Probenverdünnungslösung / Diluyente de muestras / Diluente das amostras
 Provspädning / Fortyndingsmiddel til prøver / Minta hígító / Διαλύτης δειγμάτων.

CAL

Calibrator / Calibratore / Etalon / Kalibrator / Calibrador / Kalibrator
 Kalibrator / Kalibrátor / Μέσο βαθμονόμησης.

CONTROL

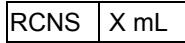
Control serum / Siero di controllo / Sérum de contrôle / Kontrollserum
 Suero de control / Soro de controlo / Kontrollserum / Kontrolserum / Kontroll szérum /
 Ορός ελέγχου.



For XX tests / Per XX dosaggi / Pour XX dosages / Für XX Bestimmungen / Para XX ensayos / Para XX testes / För XX dosering Til XX test / XX teszthez / Περιεχόμενο επαρκές για XX εξετάσεις.



Radioactive / Radioattivo / Radioactif / Radioaktiv / Radioactivo / Radioaktiv Radioaktiv / Radioaktív / Ραδιενεργός.



Reconstitute with X mL / Ricostituire con X mL / Reconstituer avec X mL Mit X mL auflösen / Reconstituya con X mL / Reconstitua com X mL Återställ med X mL / Rekonstruer med X mL / X mL-ben feloldandó / Ανασύσταση με X mL.