



CanAg CA125 EIA

Prod. No. 400 - 10

Návod k použití
2007-11

Enzymoimunoanalytická souprava
Pro 96 stanovení

POUŽITÍ

Souprava CanAg CA125 EIA je určena pro kvantitativní stanovení rakovinového antigenu CA125 v séru

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ TESTU

CA125 je vysokomolekulární glykoprotein mucinového typu, definovaný monoklonální protilátkou (MAb) Oc125, kterou stanovil Bast et al. (1). Různé epitopy, vyjádřené epitopem Oc125 na antigenu CA125, byly použity k vývoji heterologního testu pro stanovení antigenu CA125 (2). Souprava CanAg CA125 EIA je založena na dvou myších monoklonálních protilátkách, Ov197 a Ov185, nasměrovaných proti dvěma nezávislým epitopům proteinového jádra antigenu CA125 (3,4).

Stanovení CA125 je často používáno ke sledování pacientek s gynekologickým zhoubným bujením, jako je epiteliální rakovina vaječníků (5).

PRINCIP STANOVENÍ

CanAg CA125 EIA je nekompetitivní imunoanalytické stanovení na pevné fázi, založené na přímé sendvičové technice. Kalibrátory, kontroly a patientské vzorky jsou inkubovány společně s biotinylovanou myší monoklonální protilátkou proti CA125 (MAb) Ov197 v mikroprouzcích, potažených streptavidinem. CA 125, přítomný v kalibrátorech nebo vzorcích, se během inkubace adsorbuje na mikroproužky, potažené streptavidinem, prostřednictvím biotinylované MAb proti CA125. Proužky se pak promyjí a inkubují s protilátkou MAb Ov185 proti CA125, značenou křenovou peroxidázou (HRP). Po promytí se do každé jamky přidá chromogenní substrát (peroxid vodíku a 3,3',5,5' tetramethylbenzidin) v tlumivém roztoku a ponechá se probíhat enzymatická reakce. Je-li přítomen antigen, pak během enzymatické reakce dojde k modrému zabarvení roztoku v jamce. Intenzita zabarvení je úměrná množství antigenu CA125, přítomnému ve vzorcích. Intenzita zabarvení se stanoví spektrofotometrem pro mikrodestičky při 620 nm (nebo případně po přidání stop roztoku při 405 nm).

Kalibrační křivky jsou sestaveny pro každé stanovení vnesením hodnoty absorbance proti koncentraci každého kalibrátoru. Koncentrace CA125 v patientských vzorcích se pak odečítají z kalibrační křivky.

REAGENCIE

- Každá souprava CanAg CA125 EIA obsahuje reagenty na 96 stanovení.
- Expirační datum soupravy je uvedeno na vnějším štítku na krabici soupravy.
- Po uplynutí expirační doby soupravu již nepoužívejte.
- Nemíchejte reagenty z různých šarží soupravy.
- Soupravu skladujte při 2 – 8°C. Nezamrazujte.
- Stabilitu otevřených reagentů naleznete v tabulce, uvedené níže. Reagenty jsou stabilní po uvedené dobu, pokud nejsou kontaminovány, jsou skladovány v dobře uzavřených originálních lahvičkách a zachází se s nimi předepsaným způsobem. Okamžitě po použití je opět uskladněte při 2 – 8°C.

Složka	Množství	Skladování a stabilita po prvním otevření
--------	----------	---

MICROPLA Mikrodestička	1 destička	2 – 8°C do data expirace, uvedeného na destičce
----------------------------------	------------	---

12 x 8 jamek potažených streptavidinem. Nepoužité proužky po otevření okamžitě vraťte do hliníkového sáčku, obsahujícího vysoušedlo. Pečlivě uzavřete, aby proužky byly uchovávány v suchu.

Kalibrátory CA 125	5 lahviček	2 – 8°C do data expirace, uvedeného na lahvičkách
---------------------------	------------	---

CAL CA125 0	0 U/mL	1 x 8 mL
CAL CA125 10	10 U/mL	1 x 0,75 mL
CAL CA125 40	40 U/mL	1 x 0.75 mL
CAL CA125 200	200 U/mL	1 x 0.75 mL
CAL CA125 500	500 U/ml	1 x 0.75 ml

Antigen CA125 v tlumivém solném roztoku Tris-HCl, obsahujícím hovězí sérový albumin, detergent, inertní žlutou barvu a 0,05% azid sodný jako konzervační prostředek. Připraveny k použití. **CAL** | **CA125** | **0** také může být použit pro ředění vzorků.

Kontroly CA125	2 lahvičky	2 – 8°C do data expirace, uvedeného na lahvičkách
-----------------------	------------	---

CONTROL CA125 1	1 x 0,75 mL
CONTROL CA125 2	1 x 0,75 mL

Antigen CA125 v tlumivém solném roztoku Tris-HCl, obsahujícím hovězí sérový albumin, detergent a 0,05% azid sodný jako konzervační prostředek. Připraveny k použití.

Složka	Množství	Skladování a stabilita po prvním otevření
BIOTIN Anti-CA125 Biotin Anti-CA125	1 x 15 mL	2 – 8°C do data expirace, uvedeného na lahvičce
Biotinylovaná myší monoklonální protilátka proti CA125, přibližně 2 µg/mL. Obsahuje tlumivý solný roztok Tris-HCl (pH 7,75), hovězí sérový albumin, blokovací činidla, detergent, inertní červenou barvu a 0,05% azid sodný jako konzervační prostředek. Připravena k použití.		
CONJ Anti-CA125 Indikátor, HRP Anti-CA125	1 x 0,75 mL	2 – 8°C do data expirace, uvedeného na lahvičce
Zásobní roztok myší monoklonální protilátky, konjugované s HRP, přibližně 30 µg/mL. Obsahuje konzervační látky. Před použitím naředit ředidlem pro indikátor.		
DIL CONJ Ředidlo pro indikátor	1 x 15 mL	2 – 8°C do data expirace, uvedeného na lahvičce
Fosfátový tlumivý solný roztok (pH 7,2) s hovězím sérovým albuminem, blokovacími činidly, detergenty, inertní modrou barvou a 0,01% methylišothiazolonem (MIT) jako konzervačním činidlem. Připraven k použití.		
SUBS TMB Substrát TMB HRP	1 x 12 mL	2 – 8°C do data expirace, uvedeného na lahvičce
Obsahuje tlumivý roztok peroxidu vodíku a 3, 3', 5, 5' tetramethylbenzidinu (TMB). Připraven k použití.		
STOP Stop roztok	1 x 15 mL	2 – 8°C do data expirace, uvedeného na lahvičce
Obsahuje 0,12M kyselinu chlorovodíkovou. Připraven k použití.		
WASHBUF 25X	1 x 50 mL	2 – 8°C do data expirace, uvedeného na lahvičce
Tlumivý solný roztok Tris-HCl s Tweenem 20. Obsahuje Germall II jako konzervační činidlo. Před použitím naředit 25krát vodou.		

Známky nestability

Substrát TMB HRP by měl být bezbarvý nebo slabě namodralý. Modrá barva znamená, že reagentie byla kontaminována a musí být zlikvidována.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

Pouze pro diagnostické použití in vitro

- Pouze pro profesionální použití
- Dodržujte příslušná bezpečnostní opatření pro práci v laboratoři a všechny další místní a národní bezpečnostní předpisy.

- Se všemi patientskými vzorky zacházejte jako s potenciálně infekčními.
- Reagencie obsahují jako konzervační prostředek azid sodný (NaN_3). Azid sodný může reagovat s oloveným a měděným instalačním zařízením a tvořit vysoce explozivní kovové azidy. Při likvidaci odpadu proto používejte velké množství vody, abyste zabránili výbuchu.
- Při likvidaci odpadu postupujte podle místních bezpečnostních předpisů.

Upozornění

Materiál, použitý při přípravě reagensů lidského původu, byl testován na přítomnost protilátek proti HIV 1 a 2, HCV a povrchovému antigenu hepatitidy B (HBsAG), a byl shledán jako negativní. Protože žádná metoda nemůže zcela vyloučit přítomnost infekčních látek v krvi, při zacházení s reagensy lidského původu a při jejich likvidaci s nimi nakládejte jako s potenciálně infekčními.

PŘÍPRAVA A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

Souprava CanAg CA125 EIA je určena pro použití sérových vzorků. Krev odeberte ze žíly a obvyklým postupem oddělte sérum. Vzorky mohou být skladovány 24 hodin při $2 - 8^\circ\text{C}$. Pro delší skladování se doporučuje uchovávat vzorky při teplotě -70°C nebo nižší. Vzorky nesmějí být skladovány v mrazáku, který se automaticky sám odmrazuje a před analýzou nesmějí být rozmrazeny a znovu zamrazeny. Zmražené vzorky ponechte rozmrazat pozvolna, nejlépe při $2 - 8^\circ\text{C}$ přes noc a pak je před analýzou vytemperujte na laboratorní teplotu.

POSTUP

Potřebné materiály nedodávané se soupravou

1. Třepačka pro mikrodestičky

Třepání by mělo být střední až silné. Podélné třepání přibližně 200 kmitů/min., oscilace 700 – 900/min.

2. Promývací zařízení pro mikrodestičky

Automatická promývačka destiček, která umožní nastavit 1, 3 a 6 promývacích cyklů, nebo poloautomatické zařízení na promývání destiček, připojené na vakuovou pumpu nebo vývěvu a zásobník na odsátou kapalinu.

Pokud není k dispozici automatická promývačka, doporučujeme ruční promývačku pásků Nunc Immuno-8.

3. Spektrofotometr pro mikrodestičky

S vlnovou délkou 620 nm a/nebo 405 nm a rozsahem absorpance od 0 do 3,0.

4. Přesné pipety

S plastovými špičkami na jedno použití pro dávkování mikrolitrových objemů. Užitečná, ale ne nezbytná je i 8-kanálová pipeta nebo opakovací pipeta s plastovými špičkami na jedno použití pro dávkování 100 μL .

5. Destilovaná nebo deionizovaná voda

Pro přípravu promývacího roztoku.

Poznámky k postupu stanovení

1. Aby bylo zajištěno správné používání soupravy CanAg CA125 EIA, je třeba důkladně porozumět obsahu tohoto příbalového letáku. Reagencie dodávané se soupravou jsou nedílnou součástí při jejím použití. Nemíchejte identické reagenty z této soupravy, která mají různá čísla lotů. Nepoužívejte reagenty ze soupravy po uplynutí data expirace, vytištěného na vnější straně krabice soupravy.

2. Před použitím je třeba reagenty vytemperovat na laboratorní teplotu ($20 - 25^\circ\text{C}$). Abyste získali správné výsledky, pracujte pouze při teplotě mezi 20 a 25°C . Zmražené vzorky nechte rozmrazat pomalu a po roztátí je jemně, ale důkladně promíchejte.

3. Před započítáním pipetování kalibrátorů a patientských vzorků vám doporučujeme označit si jednotlivé proužky, abyste byli schopni během stanovení i po jeho skončení jednoznačně identifikovat všechny vzorky.

4. Důkladné promývání proužků je velmi důležité. Zajistěte, aby každá jamka byla úplně naplněna až ke svému okraji a aby jamky mezi jednotlivými promývacími cykly i po skončení promývání byly dokonale odsáty a byly prázdné. Jestliže v jamkách zbyla nějaká kapalina, jamky obraťte a pečlivě je vyklepejte do vrstvy buničité vaty.

Automatické promývání proužků: Postupujte podle pokynů výrobce pro údržbu a promývejte požadovaným počtem promývacích cyklů před a po každém inkubačním kroku.

V odsávacím/promývacím zařízení by promývací roztok neměl zůstat po delší dobu, protože by se mohly jehly ucpat a špatně dávkovat kapalinu nebo odsávat.

5. Substrát TMB HRP je velmi citlivý na kontaminaci. Abyste zachovali jeho optimální stabilitu a zabránili kontaminaci, odlijte požadované množství z lahvičky do pečlivě vymyté nádoby nebo nejlépe do plastové nádoby na jedno použití. Používejte pouze čisté plastové špičky na jedno použití.

6. Při manipulaci se vzorky a reagensy používejte pouze čisté plastové špičky na jedno použití a správnou techniku pipetování. Špičku pipety držte kousek nad okrajem jamky a nedotýkejte se plastového proužku ani hladiny kapaliny v jamce, abyste zabránili vzájemnému přenosu vzorku a reagensů. Správná technika pipetování je zvláště důležitá při manipulaci se substrátem TMB HRP.

Příprava reagensů

Stabilita připravené reagensie

Promývací roztok

2 týdny při 2 – 25°C v uzavřeném zásobníku

Do čisté zásobní lahve nalijte 50 mL koncentrátu promývacího roztoku a naředte 25 x přidáním 1200 mL destilované nebo deionizované vody, abyste získali tlumivý promývací roztok.

Pracovní roztok indikátoru (tracer)

3 týdny při 2 – 8°C v uzavřeném zásobníku

Připravte požadované množství pracovního roztoku indikátoru (traceru) pro jeden proužek smícháním 50 µL indikátoru HRP Anti-CA125 s 1 mL ředidla pro indikátor (viz níže uvedená tabulka):

Počet proužků	Indikátor, HRP Anti-CA125 (µL)	Ředidlo pro indikátor (mL)
1	50	1
2	100	2
3	150	3
4	200	4
5	250	5
6	300	6
7	350	7
8	400	8
9	450	9
10	500	10
11	550	11
12	600	12

Pro přípravu pracovního roztoku indikátoru použijte čistou plastovou nebo skleněnou lahvičku.

Další možnost: Nalijte obsah lahvičky s indikátorem HRP Anti-CA125 do lahvičky s ředidlem pro indikátor a jemně promíchejte. Přesvědčte se, že jste do lahvičky s ředidlem pro indikátor nalili celý obsah lahvičky s indikátorem HRP Anti-CA125.

POZNÁMKA: Pracovní roztok indikátoru je stabilní po dobu tří týdnů při 2 - 8°C. Nepřipravujte větší množství pracovního roztoku indikátoru, než jaké bude použito během této doby a zajistěte, aby byl řádně skladován.

Postup stanovení

Stanovení kalibrátorů, kontrol a patientských vzorků provádějte v duplikátech. Pro každé stanovení sestrojte novou kalibrační křivku. Všechny reagentie a vzorky musí být před použitím vytemperovány na laboratorní teplotu (20 – 25°C).

1. Začněte připravovat promývací roztok a pracovní roztok indikátoru. Je důležité používat čisté nádoby. Postupujte přesně podle návodu.
2. Do rámečku na proužky vložte požadovaný počet proužků s mikrojamkami. (Zbývající proužky okamžitě vraťte do hliníkového sáčku s vysoušedlem a pečlivě ho uzavřete.) Všechny proužky jedenkrát promyjte promývacím roztokem. Promyjte pouze tolik proužků, které budou zpracovány během následujících 30 minut.
3. Do jamek napipetujte 25 µL kalibrátorů CA125 (KAL 0, 10, 40, 200, 500), kontrol (C1, C2) a patientských vzorků (neznámé- Nez) podle následujícího schématu:

	1	2	3	4	5	6	7 atd.
A	Kal 0	Kal 500	Nez 2				
B	Kal 0	Kal 500	Nez 2				
C	Kal 10	C1	Atd.				
D	Kal 10	C1					
E	Kal 40	C2					
F	Kal 40	C2					
G	Kal 200	Nez 1					
H	Kal 200	Nez 1					

4. Pomocí přesné pipety (nebo přesné 8-kanálové pipety na 100 µL) přidejte do všech jamek 100 µL biotinylované Anti-CA125. Pipetu držte kousek nad horním okrajem jamky a nedotýkejte se plastového proužku ani hladiny kapaliny, aby nedocházelo k vzájemné kontaminaci v jamkách.
5. Rámeček s proužky inkubujte za stálého třepání po dobu 2 hodin (± 10 min.) při laboratorní teplotě (20 – 25°C) ve třepačce pro mikrodestičky.
6. Po první inkubaci všechny proužky třikrát odsajte a promyjte podle promývacího postupu, popsaného v Poznámkách k postupu stanovení, bod 4.
7. Do všech jamek přidejte 100 µL pracovního roztoku indikátoru. Použijte stejný postup pipetování, jak je popsán výše v bodu 4.
8. Rámeček inkubujte za stálého třepání 1 hodinu (± 5 min.) při laboratorní teplotě (20 – 25°C).
9. Po druhé inkubaci všechny proužky šestkrát odsajte a promyjte podle promývacího postupu, popsaného v Poznámkách k postupu stanovení, bod 4.
10. Do všech jamek přidejte 100 µL substrátu TMB HRP. Použijte stejný postup pipetování, jak je popsán výše v bodu 4. Substrát pipetujte co nejrychleji, doba mezi napipetováním první a poslední jamky nesmí přesáhnout 5 minut.

11. Inkubujte po dobu 30 minut (\pm 5 min.) při laboratorní teplotě za stálého třepání. Zabraňte působení přímého slunečního světla.
12. Okamžitě změřte absorbanci při 620 nm ve spektrofotometru pro mikrodestičky.

Další možnost

Pokud v laboratoři není spektrofotometr na mikrodestičky, schopný měřit při 620 nm, můžete stanovit absorbanci podle postupu, uvedeného v bodě 12:

Alt. 12. Přidejte 100 μ L Stop roztoku. Promíchejte a během 15 minut od přidání Stop roztoku odečtěte absorbanci ve spektrofotometru pro mikrodestičky při 405 nm.

Rozsah měření

Soupravou CanAg CA125 EIA lze měřit koncentrace mezi 1,5 a 500 U/mL. Jestliže očekáváte koncentrace CA125 přesahující tento rozsah měření, doporučujeme vzorky před analýzou naředit CA 125 kalibrátorem 0.

Kontrola kvality

Pro validaci série stanovení mohou být použity kontroly CA125 C1 a 2. Rozmezí očekávaných výsledků je uvedeno na štítcích lahvíček. Jestliže získáte hodnoty mimo tento specifikovaný rozsah, musíte provést důkladnou kontrolu reagensů a účinnosti spektrofotometru a analýzu opakovat. Každá laboratoř by si měla také připravit svá vlastní směsná séra s různými koncentracemi, které mohou být použity jako vnitřní kontroly, a tak zajistit přesnost stanovení.

Referenční materiál

Protože žádné obecné referenční materiály pro antigen CA125 nejsou k dispozici, hodnoty kalibrátorů soupravy CanAg CA125 EIA byly stanoveny ve srovnání se sadou referenčních standardů výrobce.

VÝPOČET VÝSLEDKŮ

Používá-li se spektrofotometr na mikrodestičky s vestavěným výpočetním programem, řiďte se návodem ke spektrofotometru a vytvořte program, ve kterém použijete koncentrace, uvedené na štítcích kalibrátorů CA125.

Pro automatický výpočet výsledků CA125 doporučujeme použít některou z následujících metod:

- Aproximaci křivky „kubický spline“. Do křivky je nutno zahrnout kalibrátor 0 s hodnotou 0 U/mL.
- Aproximaci křivky „vyhlazený spline“. Kalibrátor 0 se použije jako blank destičky.
- Interpolaci proložením od bodu k bodu. Do křivky je nutno zahrnout kalibrátor 0 s hodnotou 0 U/mL.
- Metodu kvadratické aproximace křivky. Do křivky je nutno zahrnout kalibrátor 0 s hodnotou 0 U/mL.

POZNÁMKA: Nepoužívejte 4-parametrovou nebo lineární regresi.

Při manuálním vyhodnocení se kalibrační křivka získá vynesemím hodnot absorbance (A), získaných pro každý kalibrátor CA125, proti odpovídající koncentraci CA125 (v U/mL), viz obrázek níže. Neznámé koncentrace CA125 se potom odečtou z kalibrační křivky na základě průměrné hodnoty absorbance každého patientského vzorku.

Jestliže při prvním stanovení vzorky vykazují hodnoty CA125 vyšší než 500 U/mL, musí být naředěny CA125 kalibrátorem 0 v poměru 1/10 a 1/100, aby se získala správná koncentrace CA125 ve vzorcích.

Ředění 1/10 = 50 μ L vzorku + 450 μ L CA125 kalibrátoru 0

Ředění 1/100 = 50 µL vzorku naředěného 1/10 + 450 µL CA125 kalibrátoru 0

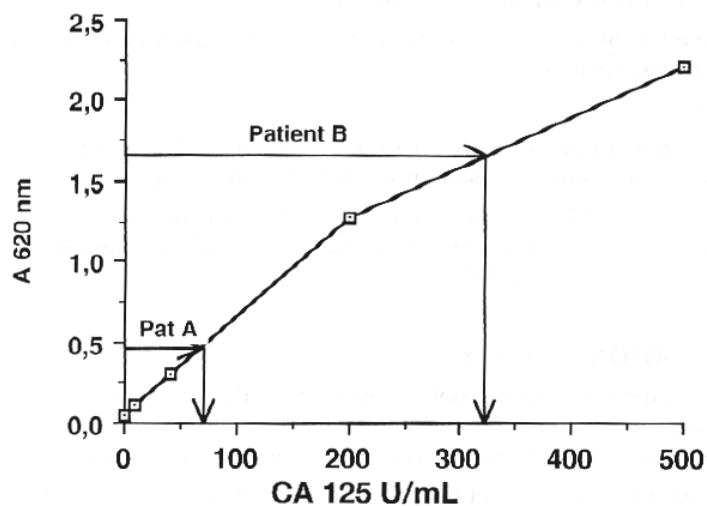
Koncentrace CA125 v neředěném vzorku se vypočte následovně:

Ředění 1/10: 10 x naměřená hodnota

Ředění 1/100: 100 x naměřená hodnota

Příklad výsledků

Vzorek	Hodnota kalibrátoru	Průměrná hodnota	CA125 (U/mL)	
CAL	CA125	0	0 U/mL	0.047
CAL	CA125	10	10 U/mL	0.116
CAL	CA125	40	40 U/mL	0.298
CAL	CA125	200	200 U/mL	1.269
CAL	CA125	500	500 U/mL	2.218
Campione A		0.490	69.8	
Campione B		1.650	325	



Příklad, nepoužívejte tuto křivku ke stanovení výsledků.

OMEZENÍ SOUPRAVY

Hladiny CA125 nemohou být považovány za absolutní důkaz existence nebo neexistence maligního onemocnění a stanovení CA125 nemůže být použito ke screeningu rakoviny. Při stanovení diagnózy onemocnění a při léčení pacientů musí být výsledky stanovení interpretovány pouze v souvislosti s dalšími vyšetřeními a diagnostickými postupy a stanovení CA125 nemůže nahrazovat jakákoliv používaná klinická vyšetření.

Protilátky proti reagentům (lidská protilátka proti myši (HAMA) nebo heterofilní protilátky) v patientském vzorku mohou příležitostně interferovat se stanovením, i když v tlumivém roztoku jsou obsažena speciální blokující činidla.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

CanAg CA125 byl stanoven u 100 zdravých ženských dárců krve. Průměrná stanovená hodnota byla 14,7 U/mL se standardní odchylkou 7,7. Hodnota mediánu byla 13,1 U/mL, rozsah 5,06 – 47,9 U/mL. Nízké a vysoké mezní hodnoty normálního rozsahu byly podrobeny neparametrickému statistickému vyhodnocení, které bylo doporučeno IFCC. Referenční interval obsahuje střední 95% podíl referenčního rozdělení. Referenční meze mohou být tudíž odhadnuty jako 2,5% (nižší) a 97,5% (vyšší) fraktily. Tyto hranice vymezují podíl 2,5% hodnot na každém okraji referenčního rozdělení. Neparametrické odhady: N = 100

Podíl	Referenční mez (U/mL)
2,5 (nižší)	5
97,5 (vyšší)	39

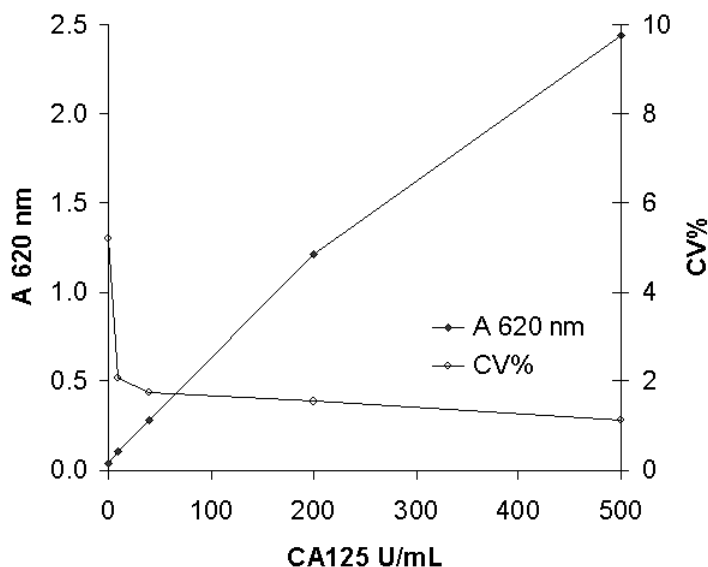
96% zdravých žen má stanovené hodnoty pod 35 U/mL.

Doporučujeme, aby si každá laboratoř stanovila svůj vlastní normální rozsah vzhledem k místním podmínkám, jako je strava, klima, životní podmínky, výběr pacientů atd. Je třeba také mít na paměti, že počáteční výsledek každého pacienta představuje nejdůležitější referenční bod pro interpretaci výsledků markeru (6).

ANALYTICKÉ PARAMETRY STANOVENÍ

Dávková odezva a profil přesnosti

Na následujícím obrázku je zobrazena typická kalibrační křivka a profil přesnosti, které byly získány pomocí soupravy CanAg CA125 EIA. Profil přesnosti je založen na náhodném pipetování kalibrátorů do jedné mikroděstičky, n = 11.



Přesnost

Celková přesnost byla stanovena na základě směrnice NCCLS EP5-A (7). Byly použity čtyři směsné vzorky zmrazeného lidského séra s různými hladinami CA125, které obsahovaly přidaný pool ascitů. Každý vzorek byl náhodně pipetován (n = 2/analýzu) a každý den dvakrát analyzován v průběhu 10 dnů. Analýzy byly prováděny v rozmezí 8 měsíců ≥ dvěma různými laboranty a bylo použito 10 různých šarží soupravy CanAg CA125 EIA.

Vzorek	Replikáty	Průměr (U/mL)	Opakovatelnost		Reprodukovatelnost	
			SD(U/mL)	VK %	SD (U/mL)	VK %
CA125 1	40	16.8	0.74	4.4	0.53	3.1
CA125 2	40	75.7	3.26	4.3	2.42	3.2
CA125 3	40	201	8.55	4.3	7.58	3.8
CA125 4	40	392	11.4	2.9	15.5	4.0

Mez detekce

Mez detekce soupravy CanAg CA125 EIA je < 1,5 U/mL a je definována jako koncentrace, odpovídající průměru hodnot absorbance kalibrátoru CA125 0 plus 2 směrodatné odchylky podle vzorce

$$\frac{2 \times \text{SD CAL 0}}{\text{OD CAL 10-OD CAL 0}} \times 10 \text{ U/mL}$$

Vzorky „s přídavkem“ byly připraveny přidáním lidského antigenu CA125 k normálním sérovým vzorkům. Výtěžnost antigenu byla 100 ± 15%.

Hook efekt

Žádný hook efekt nebyl pozorován ani u vzorků o koncentraci až do 50 000 U/mL.

POZNÁMKA: U vzorků s velmi vysokou koncentrací se barva substrátu mění z modré na zelenavou (a u extrémně vysokých vzorků až na žlutou). To vede k falešně nízké absorbanci při 620 nm. V extrémních případech může absorbance klesnout až do rozsahu kalibrační křivky a být zaznamenána jako hook.

Linearita

Pacientské vzorky byly postupně ředěny kalibrátorem CA125 0 a analyzovány. Získané hodnoty byly 100 ± 15% očekávaných hodnot.

Specifita

Souprava CanAg CA125 EIA je založena na dvou myších monoklonálních protilátkách Ov197 a Ov158, které jsou nasměrovány protidvěma nezávislým epitopům proteinového jádra antigenu CA125 (4). Možné zdroje interference byly stanoveny na základě směrnice NCCLS EP7-P (8). Byly testovány následující koncentrace sloučenin, které jsou uvedeny v tabulce. Žádná z nich neinterferovala se stanovením.

Koncentrace s žádnou významnou interferencí (± 10%)	
Lipemie (Intralipid®)	4 mg/mL
Bilirubin, nekonjugovaný	0.6 mg/mL
Hemoglobin	5 mg/mL

ZÁRUKA

Uvedené analytické parametry soupravy byly získány danou soupravou podle popsaného postupu stanovení. Jakékoliv změny nebo modifikace postupu, které nebyly doporučeny výrobcem Fujirebio Diagnostics, mohou ovlivnit výsledky. V tomto případě Fujirebio Diagnostics odmítá zodpovědnost za všechny poskytované záruky, ať už předpokládané nebo zákonné, včetně předpokládané záruky prodejnosti a způsobilosti k použití.

LITERATURA

1. Bast R., Feeney M., Lazarus H., Nadler L., Colvin R., Knapp R., (1981). Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. *J Clin Invest* 68: 1331 - 1337.
2. O'Brien T, Raymond L, Bannon G, Ford D, Hardardottir H, Miller F, Quirk J (1991). New monoclonal antibodies identify the glycoprotein carrying the CA125 epitope. *Am J Obstet Gynecol* 165: 1857 - 1864.
3. Nilsson O, Jansson E-L, Dahlen U, Nilsson K, Nustad K, Högberg T, Lindhom L (1994). In: *Current Tumor Diagnosis: Applications, Clinical Relevance, Research, Trends*. Ed R. Klapdor. Zuckschwerdt Verlag München, pp 401-405.
4. Nustad K. et al., (1996) Specificity and affinity of 26 monoclonal antibodies against the CA125 antigen: First report from the ISOBM TD-1 Workshop. *Tumor Biol* 17:196-219.
5. Bonfrer J., Duffy M., Radtke, M., Segurado O., Torre G., van Dalen A., Zwirner M. (1999) Tumor markers in gynaecological cancers-EGTM recommendations. *Anticancer Research* 19:2785-2820.
6. Tuxen M., Sölétormos, G., Rustin, G., Nelstrop A., Dombernowsky, P. (2000) Biological variation and analytical imprecision of CA125 in patients with ovarian cancer. *Scand J Clin Invest* 60:713-722.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. Approved Guideline EP5-A (1999).
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards, National Evaluation Protocols for Interference Testing, Evaluation protocol Number 7, Vol. 6, No 13, August (1986).



CanAg ® je registrovaná obchodní značka Fujirebio Diagnostics AB

CanAg Diagnostics AB
Maj nabbe Terminal
SE-414 55 Gothenburg
Sweden
Phone + 46 31-85 70 30
Fax + 46 31-85 70 40
info@fdab.com
www.fdi.com