



CanAg CA125 EIA

REF 400-10

IVD

CE

Instructions d'utilisation. 2010-07

EN	EXPLANATION OF SYMBOLS
BG	ОБЯСНЕНИЕ НА СИМВОЛИТЕ
CS	VÝZNAM SYMBOLŮ
DA	SYMBOLFORKLARING
DE	ERKLÄRUNG DER SYMBOLE
EL	ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΒΟΛΩΝ
ES	SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS
ET	SÜMBOLITE SELGITUS
FR	EXPLICATION DES SYMBOLES
HR	OBJAŠNJENJE SIMBOLA
HU	JELMAGYARÁZAT
IT	SPIEGAZIONE DEI SIMBOLI
LT	SIMBOLIŲ PAAIŠKINIMAI
LV	SIMBOLU SKAIDROJUMS
NL	VERKLARING DER SYMBOLEN
NO	SYMBOLFORKLARING
PL	OBJAŚNIENIE SYMBOLI
PT	EXPLICAÇÃO DOS SÍMBOLOS
RO	SEMNICIFICAȚIA SIMBOLURILOR
RU	ОБОЗНАЧЕНИЯ
SE	SYMBOLFÖRKLARING
SK	VÝZNAM SYMBOLOV
SL	RAZLAGA SIMBOLOV
SR	OBJAŠNJENJE SIMBOLA
TR	SEMBOLLERİN AÇIKLAMALARI



Use By/Годно до/Použitelné do/
Holdbar til/Verwendbar bis/
Ημερομηνία λήξης/Fecha
de caducidad/Kölblik kuni/
Utiliser jusque/Rok valjanosti/
Felhasználható/Utilizzare entro/
Sunaudoti iki/Izlietot līdz/Houdbaar
tot/Brukes innen/Użyty przed/
Prazo de validade/Expirã la/
Использовать до/Använd före/
Použite né do/ Uporabno do/
Upotrebljivo do/Son Kullanna Tarihi

LOT

Batch code/Номер на партида/
Číslo šarže/Lotnummer/
Chargenbezeichnung/Αριθμός
Παρτίδας/Código de lote/Partii
kood/Code du lot/Kod serije/
Sarzsám/Codice del lotto/
Partijos kodas/Partijas kods/Lot
nummer/Partikode/Kod partii/
Código do lote/Număr de lot/
Номер лота/Lotnummer/Číslo
šarže/Številka serije/Kod partije/
Parti Kodu



Date of manufacture/Дата на производство/Datum výroby/Produktionsdato/Herstellungsdatum/Hμερομηνία παραγωγής/Fecha de fabricación/Valmistamise kuupäev/Date de fabrication/Datum proizvodnje/Gyártási idő/Data di produzione/Pagaminimo data/Ražošanas datums/Productiedatum/Fremstillingsdato/Data produkcji/Data de fabrico/Data fabricației/Дата производства/Tillverkningsdatum/Datum výroby/Datum izdelave/Datum proizvodnje/Üretim tarihi



In Vitro Diagnostic Medical Device/Медицински уред за диагностика ин витро/Lékařský přístroj pro diagnostiku in vitro/Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik/In-vitro-Diagnostikum/Ιατροτεχνολογικό προϊόν για διάγνωση In Vitro/Dispositivo médico para diagnóstico in vitro/In vitro diagnostiline meditsiiniseade/Dispositif médical de diagnostic in vitro/Diagnostički medicinski uređaj In Vitro/In vitro orvosdiagnostikai eszköz/Dispositivo medico per test diagnostici in vitro/In Vitro Diagnostinė Medicinos Priemonė/Mediciniska ierīce in vitro diagnostikai/In vitro-diagnostisch medisch instrument/In vitro diagnostisk medisinsk utstyr/Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro/Dispositivo Médico de Diagnóstico In Vitro/Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro/Только для диагностики In Vitro/Endast för in vitro-diagnostik/Zdravotnícka pomôcka na diagnostiku in vitro/In vitro diagnostični pripomoček/Diagnostički medicinski uređaj In Vitro/<96> testleri için yeterlilik içerir



Catalogue number/Каталожен номер/Katalogové číslo/Katalognummer/Bestellnummer/Αριθμός καταλόγου/Número de catálogo/Kataloogi number/Numéro de catalogue/Kataloški broj/Katalógusszám/Numero di catalogo/Katalogo numeris/Numurs katalogā/Catalogusnummer/Katalognummer/Numer katalogowy/Número do catálogo/Număr de catalog/Номер по каталогу/Produktnummer/Katalógové číslo/Kataloška številka/Kataloški broj/Katalog numarası



Temperature limitation/Температурни граници/Теплотní omezení/Temperaturbegrænsning/Temperaturbegrenzung/Περιορισμοί θερμοκρασίας/Límites de temperatura/Temperatuuri piirang/Limite de temperaturę/Temperaturno ograničenje/Hőmérsékletre vonatkozó korlátozás/Limiti di temperatura/Temperatūriniai apribojimai/Temperatūras ierobežojums/Temperatuurbepërking/Temperaturbegrensninger/Temperaturey graniczne/Limite de temperatura/Limite de temperatură/Температурный режим/Temperaturbegrænsning/Teplotné obmedzenie/Omejitjev temperature/Temperaturno ograničenje/Sıcaklık sınırlaması



Contains sufficient for <96> tests/Съдържа достатъчно количество за тестове <96>/Lze použít pro <96> testů/Inneholder tilstrækkeligt/Inhalt ausreichend für <96> Prüfungen/Περιεχόμενο επαρκές για «96» εξετάσεις/Contenido suficiente para <96> ensayos/Kogusest piisab <96> testi läbiviimiseks/Contenu suffisant pour «96» tests/Sadrži dovoljno za <96> testova/A doboz tartalma <96> vizsgálat elvégzéséhez elegendő/Contenuto sufficiente per «96» saggi/Turiny's skirtas atlikti <96> tyrimus/Satur's pietiekams <96> testiem/Inhoud voldoende voor «96» testen/til «96» test/Tilstrækkelig innhold for <96> prøver/Wystarczy na wykonanie <96> testów/Conteúdo suficiente para «96» ensaios/Conținut suficient pentru 96 de teste/Содержит достаточные количества для «96» определений/Innehåller tillräckligt till «96» antal tester/Obsah postačuje na tento počet testov: <96>/Vsebinsa zadostuje za <96> testov/Sadržina dovoljna za <96> testova/<96> testleri için yeterlilik içerir



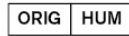
Consult Instructions for Use/
 Прочетете инструкцията за
 употреба/Konzultujte s návodem
 k použití/Se brugsanvisning/Siehe
 Gebrauchsanweisung/Συμβουλευτείτε
 τις Οδηγίες σχετικά με τη χρήση/
 Consulte las instrucciones de uso/
 Vt kasutusjuhendit/Consulter le mode
 d'emploi/Pročitajte upute za uporabu/
 Olvassa el a használati utasítást/
 Consultare le istruzioni per l'uso/Dël
 naudojimo žiūrėkite instrukcijas/Izlasiet
 lietošanas instrukciju/Raadpleeg de
 instructies voor gebruik/Les instruksene
 før bruk/Sprawdzic w instrukcji użycia/
 Consulte as Instruções de Utilização/
 Consultați instrucțiunile de utilizare/
 Обратитесь к инструкции по
 применению/Se bruksanvisning/
 Prečítajte si návod na používanie/
 Pročitajte uputstvo za upotrebu/
 Kullanım Talimatlarını Bakınız



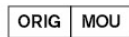
Contents of kit/Съдържание на набора/
 Obsah sady/Kittets indhold/Inhalt des
 Kits/Περιεχόμενα του κιτ/Contenido
 del kit/Komplekt sisaldab/Contenu du
 kit/Sadržaj opreme/A készlet tartalma/
 Contenido del kit/Rinkinio turinys/
 Komplekta saturs/Inhoud van de set/
 Settets innhold/Zawartość zestawu/
 Conteúdo do kit/Conținutul setului/
 Компоненты набора/Kit innehåll/
 Obsah súpravy/Vsebina kompleta/Sadržaj
 opreme/Kitin içindekiler



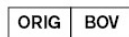
Biological risks/Биологическа
 опасност/Biologická rizika/Biologisk
 fare/Biologische Gefahren/Βιολογικοί
 κίνδυνοι/Riesgos biológicos/
 Bioloogilised ohud/Risques biologiques/
 Biološkli rizici/Biológiai kockázatok/Rischi
 biologici/Biologinis pavojus/Bioloģiskais
 risks/Biologische risico's/Biologiske
 risikoer/Zagrozenie biologiczne/Riscos
 biológicos/ Biologisk risk/Pericole
 biologice/Биологическая опасность/
 Biologicky rizikové/Biologické riziká/
 Biološkli rizici/Biyolojik riskler



Human/С човешки произход/Lidské/
 Humant/Human/δείγματα αναφοράς/
 Humano/Inimpäritolu/Humaine/Ljudskog
 porjekla/Humán/Origine Umana/
 Žmogaus kilmės/Cilvēku izcelsmes/
 Human/Menneske/Ludzka/Humano/
 Origine umană/Человеческого
 происхождения/Human/Ludské/
 Humanega izvora/Ljudskog porekla/Īnsan



From mouse/С миши произход/Мыši/
 Fra mus/der Maus/από ποντίκι/de ratón/
 Hiirtelt/De souris/Mišijeg porjekla/
 Egérból/Murino/Pelés kilmés/No peles/
 Van muizen/Fra mus/Mysia/Do rato/De
 la șoareci/Мышиного происхождения/
 Från mus/Myšie/Mišjega izvora/Mišijeg
 porekla/Fareden



Bovine/С говяжди произход/
 Hovězí/Bovin/Rind/από βοοειδή/
 Bovino/Veistelt/Bovine/Rogate stoke/
 Szarvasmarha/Bovino/Jaučio/No
 liellopa/Bovien/Bovin/Wołowy/Bovino/
 Origine bovină/крупного рогатого
 скота/Från ko/Hovädzie/Govejega
 izvora/Rogate krupne stoke/Bovin



Reconstitute with/Разтваряне с/
 Rozřed'te pomocí/Rekonstitueres med/
 Rekonstituieren mit/Ανασύσταση με/
 Reconstituir con/Lahjendamine/
 Reconstituer avec/Rekonstituiraite s/
 Feloldáshoz/Ricostituire con/Atkurti,
 ištirpdant su/Atšķaidīt ar/Reconstitue
 met/Rekonstitueres med/Odtworzyć
 za pomocą/Reconstituir com/A
 se reconstitui cu/Разтворить в/
 Rekonstituera med/Rozried'te pomocou/
 Rekonstituiraite z/s/Ponovno formiranje
 sa/Yeniden oluřturulur



Manufacturer/Производител/Výrobce/
 Producent/Hersteller/Κτασκευαστής/
 Fabricante/Tootja/Fabricant/Proizvođač/
 Gyártó/Fabbricante/Gamintojas/
 Ražotājs/Fabrikant/Produsent/
 Producent/Fabricante/Producător/
 Производител/Тиллverkare/ Výrobca/
 Izdelovalec/Proizvođač/Üretici

CanAg CA125 EIA

Instructions d'utilisation

Kit de Test Immunoenzymatique

Pour 96 déterminations

UTILISATION

Le Kit CanAg CA125 EIA est destiné à la détermination quantitative du CA125, antigène associé au cancer, dans le sérum humain.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

CA125 est une mucine, type glycoprotéine, à haut poids moléculaire, définie à l'origine par l'anticorps monoclonal (Mab) OC 125 établi par Bast et al. (1).

Différents épitopes, co-exprimés avec l'épitope OC 125 sur l'antigène CA125, ont été utilisés pour le développement de Tests Hétérologues pour la détermination de l'antigène CA125 (2).

Le Test CanAg CA125 est basé sur deux anticorps monoclonaux de la souris, OV 197 et OV 185, directement contre deux épitopes indépendants de la principale protéine de l'antigène CA125 (3, 4).

Les Tests CA125 sont fréquemment utilisés pour surveiller des patients avec des maladies gynécologiques comme le cancer épithélial de l'ovaire.

PRINCIPE DU TEST

Le Test CanAg CA125 EIA est en phase solide. Cet immuno-test, non-compétitif, est basé sur la méthode sandwich directe.

Les Calibreurs, les Contrôles et les échantillons de Patients sont incubés ensemble avec un Anti-CA125, anticorps monoclonal (de la souris) (Mab) OV 197 biotinylé, dans des barrettes microtitre enduites à la Streptavidine.

CA125, présent dans les Calibreurs ou dans les échantillons, est adsorbé sur les barrettes enduites de Streptavidine par le Anti-CA125 Mab biotinylé, durant l'incubation.

Les barrettes sont alors lavées et incubées avec HRP étiqueté Anti-CA125 Mab OV 185. Après lavage le Réactif tamponné Substrat Chromogène (Hydrogène Peroxyde et 3, 3', 5, 5' tétra-méthyl-benzidine) est ajouté à chaque puits et la réaction enzymatique peut commencer.

Pendant la réaction enzymatique, une couleur bleue se développe si l'antigène est présent.

L'intensité du développement de la couleur est proportionnelle à la quantité de CA125 présent dans les échantillons.

L'intensité de la couleur est déterminée par un Spectrophotomètre pour plaque microtitre à 620 nm (ou optionnellement à 405 nm) après addition de la Solution d'Arrêt.

Les courbes de calibrage sont construites pour chaque test en mettant sous forme graphique les valeurs d'absorbance contre la concentration de chaque Calibreur.

Les concentrations de CA125 des échantillons de patients sont alors lues à partir de la courbe de calibrage.

REACTIFS

- Chaque Kit CanAg CA125 EIA contient des Réactifs pour 96 Tests.
- La date d'expiration du Kit est imprimée sur l'étiquette à l'extérieur de la boîte de Kit.
- Ne pas utiliser le Kit au-delà de sa date d'expiration.
- Ne pas mélanger des Réactifs de différents lots de Kit.
- Conserver les Kits à +2 - +8°C. Ne pas congeler.
- Les Réactifs ouverts sont stables, suivant le tableau ci-dessous, à condition qu'ils n'aient pas été contaminés, qu'ils aient été conservés dans leur conteneur d'origine fermé, qu'ils aient été manipulés comme prescrit et qu'ils aient été remis à +2 - +8°C immédiatement après usage.

Composant	Quantité	Conservation et stabilité après la première ouverture
-----------	----------	---

MICROPLA

Microplaque	1 plaque	+2° - +8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur la plaque
--------------------	----------	--

12 barrettes détachables de 8 puits enduits de Streptavidin. Après ouverture, remettre les barrettes non utilisées dans le sachet aluminium contenant un déshydratant et ressouder soigneusement pour les garder au sec.

Calibreurs CA125	5 flacons	+2° - +8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon
-------------------------	-----------	--

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

CA125 Antigène, est une solution tamponnée de sel Tris-HCl contenant de la sérum albumine bovine, du détergent, un colorant inerte jaune et 0,05% d'Azide de Sodium comme conservateur. La solution est prête à l'emploi.

CAL	CA125	0	doit être aussi utilisé pour la dilution des échantillons.
-----	-------	---	--

Contrôles CA125		+2°-+8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur les flacons
------------------------	--	--

CONTROL	CA125	1	1 x 0.75 mL
CONTROL	CA125	2	1 x 0.75 mL

CA125 Antigène, est une solution tamponnée de sel Tris-HCl contenant de la sérum albumine bovine, du détergent et 0,05% d'Azide de Sodium comme conservateur. La solution est prête à l'emploi.

BIOTIN	Anti-CA125
---------------	-------------------

Biotine Anti-CA125	1 x 15 mL	+2° - +8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon
---------------------------	-----------	--

Solution de Biotine Anti-CA125, anticorps monoclonal de souris, à la concentration approximative de 2 µg/ml. Elle contient un tampon de sel Tris-HCl (pH 7.5), de la sérum albumine bovine, des agents bloquants, des détergents, un colorant inerte rouge et 0.05 % d'Azide de Sodium comme conservateur. La solution est prête à l'emploi.

Composant	Quantité	Conservation et stabilité après la première ouverture
-----------	----------	---

CONJ Anti-CA125		
Traceur, HRP Anti-CA125	1 x 0.75 mL	+2° - +8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon

Solution concentrée de HRP Anti-CA125, anticorps monoclonal de souris, à la concentration approximative de 30 µg/ml. Elle contient des conservateurs. La solution doit être diluée avec le Traceur Diluant avant utilisation.

DIL CONJ		
Traceur Diluant	1 x 15 mL	+2° - +8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon

Solution saline de tampon Phosphate (pH 7,2) contenant de la sérum albumine bovine, des agents bloquants, des détergents, un colorant inerte bleu et 0,01% de méthyl-isothiazolone (MIT) comme conservateur. La solution est prête à l'emploi.

SUBS TMB		
Substrat -TMB HRP	1 x 12 mL	+2° - +8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon

Solution prête à l'emploi. Elle contient un tampon de peroxyde d'hydrogène et du 3, 3', 5, 5' tétra-méthyl-benzidine (TMB).

STOP		
Solution d'Arrêt	1 x 15 mL	+2° - +8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon

Solution prête à l'emploi. Elle contient 0.12 M d'acide Chlorhydrique.

WASHBUF 25X		
Solution de Lavage concentrée	1 x 50 mL	+2° - +8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon

Elle doit être diluée 25 fois avec de l'eau distillée ou désionisée, avant utilisation. Il s'agit d'une solution tampon de sel Tris-HCL avec du Tween 20. Elle contient du Germall II comme conservateur.

Signes d'instabilité

Le Substrat-TMB HRP, doit être incolore ou légèrement bleuté. Une couleur bleue indique que le réactif a été contaminé et qu'il doit être détruit.

MISE EN GARDE ET PRECAUTIONS D'EMPLOI

Pour un usage diagnostique in Vitro

- Pour usage professionnel seulement.
- Prière de se référer à la Publication N°: (CDC) 88-8395 de l'U.S. Département of Health and Human Services (Béthesda, Md., USA) sur les procédures de sécurité dans les laboratoires ou toutes autres réglementations locales et nationales.
- Manipuler les échantillons de patients comme potentiellement infectieux.
- Réactifs contenant de l'Azide de Sodium (NaN₃) comme conservateur: l'Azide de Sodium peut réagir avec les tubes en plomb et en cuivre pour former des Azides de métaux hautement explosifs. Lors de l'élimination, répandre une grande quantité d'eau pour prévenir la formation des Azides.
- Suivre les réglementations locales pour l'élimination et le traitement de tous les déchets.

Attention

Le matériel utilisé pour la préparation de réactifs d'origine humaine, a été testé et trouvé non réactif aux Anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine (VIH-1/2), aux Anticorps de l'Hépatite C (VHC) et à l'Antigène de surface de l'Hépatite B (AgHBs). Puisqu'il n'existe pas de méthode de test, rejetant complètement la présence de maladies dans le sang, la manipulation et l'élimination de réactifs d'origine humaine doivent être effectuées comme s'ils étaient potentiellement infectieux.

PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Le Test CanAg CA125 EIA est destiné à être utilisé avec du sérum.

Prélever du sang par veino-puncture et séparer le sérum selon les procédures habituelles.

Les échantillons peuvent être conservés à +2° - +8°C pendant 24 heures.

Pour des périodes plus longues, conserver les échantillons à -70°C (ou en dessous).

Les échantillons ne doivent pas être conservés dans un congélateur à décongélation automatique et ne doivent pas être décongelés et recongelés avant analyse.

Il est permis de décongeler lentement à +2° - +8°C pendant la nuit et d'amener ainsi les échantillons à température ambiante avant analyse.

MODE OPERATOIRE

Matériels nécessaires mais non fournis avec le Kit.

- 1. Agitateur de microplaques**
L'agitation doit être de moyenne à vigoureuse, environ 900 à 1100 oscillations/min.
- 2. Dispositif de lavage de microplaques**
Laveur de microplaques automatique en mesure de réaliser 1, 3 et 6 cycles de lavage et doté d'un volume de remplissage minimum de 350 µL/puits/cycle de lavage.
Le laveur manuel de barrettes Nunc Immuno-8 est recommandé si un laveur de microplaques automatique n'est pas utilisé.
- 3. Spectrophotomètre pour microplaques**
avec une longueur d'onde de 620 nm et/ou 405 nm et une échelle d'absorbance de 0 à 3.0.
- 4. Pipettes de précision**
avec des pointes plastiques jetables pour la distribution de volumes microtitrés.
Une pipette à 8 canaux ou un distributeur avec pointes plastiques jetables, pour la délivrance de volume de 100 µL, est utile mais pas essentiel.
Des pipettes pour distribuer des millilitres.
- 5. Eau distillée et désionisée**
pour la préparation de la Solution de Lavage diluée.

Notes de Procédure

1. Une compréhension complète de la notice est nécessaire pour assurer un usage correct du Kit CanAg CA125 EIA. Les Réactifs livrés dans le Kit en font partie intégrante.
Ne pas mélanger des Réactifs identiques venant de Kits avec un N° de lot différent.
Ne pas utiliser les Réactifs après la date d'expiration imprimée à l'extérieur de la boîte.
2. Les Réactifs doivent atteindre la température ambiante (20°/25°C) avant leur utilisation.
Le Test doit seulement être réalisé à une température comprise entre 20° et 25°C pour obtenir des résultats précis.
Une série congelée doit être agitée doucement mais complètement après décongélation.
3. Avant de commencer à pipeter les Calibreurs et les échantillons de patients, il est recommandé de marquer les barrettes pour faire en sorte d'identifier clairement les échantillons pendant et après le Test.
4. La condition d'un lavage efficace et poussé requise pour séparer l'antigène et les réactifs liés et non liés des complexes anticorps-antigène liés en phase solide représente l'une des étapes les plus importantes d'un dosage immunoenzymatique. Afin d'assurer un lavage efficace, assurez-vous que: tous les puits sont complètement remplis de solution de lavage pendant chaque cycle de lavage, jusqu'à ras bord; que la solution de lavage est distribuée à un débit approprié; que l'aspiration des puits entre et après les cycles de lavage est bien complète; et que les puits sont bien vides. Si du liquide reste, renversez la plaque et tapotez légèrement dessus contre du papier absorbant.
- Dispositif automatique de lavage de barrette: suivez les instructions du fabricant pour un nettoyage et un entretien diligents des barrettes et pour connaître le nombre de cycles de lavage requis avant et après chaque étape d'incubation. Il est vivement recommandé de suivre le mode processuel de barrette ou le mode de lavage en trop-plein avec un volume de 800 µL. Le dispositif d'aspiration/lavage ne doit pas rester avec de la solution de lavage sur des intervalles de temps prolongés parce que les aiguilles pourraient se boucher, ce qui aurait pour résultat une baisse de la distribution et de l'aspiration de liquide.
5. Le Substrat-TMP HRP est très sensible à la contamination. Pour une stabilité optimale du Substrat-TMP HRP, transférer la quantité requise du flacon dans un réservoir délicatement lavé, ou préférablement dans un bac jetable en plastique, pour éviter la contamination du Réactif.
S'assurer de l'utilisation de pipettes à pointes en plastique, propres et jetables (ou d'une pipette distributrice à pointes)
6. S'assurer de l'utilisation d'une pipette à pointes en plastique, propres et jetables et d'une technique de pipetage correcte, lors de la manipulation des échantillons et des Réactifs.
Eviter de passer au-dessus en maintenant la pointe de pipette légèrement au-dessus du haut du puits et éviter de toucher la barrette de plastique ou la surface du liquide.
Une technique de pipetage correcte est d'une importance particulière lorsque l'on manipule la Solution de Substrat-TMB HRB.

Préparation des Réactifs	Stabilité des Réactifs préparés
Solution de Lavage	2 semaines à +2° - +25°C en conteneur fermé
Transférer 50 ml de Solution concentrée de Lavage dans un conteneur propre et diluer 25 fois en additionnant 1200 ml d'eau distillée ou désionisée pour obtenir une Solution de Lavage tamponnée.	
Traceur, Solution de travail	3 semaines à +2° - +8°C en conteneur fermé
Préparer la quantité requise de Traceur, Solution de travail, en mélangeant 50 µL de Traceur HRP Anti-CA125 avec 1ml de Traceur Diluant par barrette. (voir le tableau ci-dessous)	

N° de Barrette	Traceur, HRP Anti-CA125 (μL)	Traceur Diluant (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

S'assurer de l'utilisation d'un flacon propre, en plastique ou en verre, pour la préparation de Traceur, Solution de travail.

Alternative: verser le contenu de Traceur, HRP Anti-CA125 dans le flacon de Traceur Diluant et mélanger doucement. S'assurer que tout le contenu de Traceur, HRP Anti-CA125 est transféré dans le flacon de Traceur Diluant.

Note: le Traceur, Solution de travail, est stable pendant trois semaines à $+2^\circ - +8^\circ\text{C}$. Ne pas préparer plus de Traceur, Solution de travail, qu'il ne pourra en être utilisé pendant cette période et s'assurer qu'elle sera conservée correctement.

Procédure du Test

Réaliser chaque détermination en double, pour à la fois les Calibreurs et les échantillons de patients. Une courbe de calibrage doit être réalisée pour chaque Test. Tous les Réactifs et les échantillons doivent être amenés à température ambiante ($20^\circ/25^\circ\text{C}$) avant utilisation.

- Commencer par la préparation de la Solution de Lavage et de Traceur, Solution de travail. Il est important d'utiliser des contenants propres et de suivre les instructions soigneusement.
- Transférer le nombre requis de barrettes de plaque microtitre sur un portoir à barrettes. Remettre immédiatement le reste de barrettes dans le sac aluminium contenant le déshydratant et ressouder soigneusement. Laver une fois chaque barrette avec la Solution de Lavage.
Ne pas laver plus de barrettes qu'il peut en être manipulé pendant 30 mn.
- Pipeter 25 μL de Calibreurs CA125 (CAL 0, 10, 40, 200, 500), 25 μL de Contrôles CA125 (C1, C2) et 25 μL d'échantillons de patients (inconnus – Inc) dans les puits des barrettes suivant le plan détaillé ci-dessous:

	1	2	3	4	5	6	7 etc
A	Cal 0	Cal 500	2nd Inc				
B	Cal 0	Cal 500	2nd Inc				
C	Cal 10	C1	Etc.				
D	Cal 10	C1					
E	Cal 40	C2					
F	Cal 40	C2					
G	Cal 200	1st Inc					
H	Cal 200	1st Inc					

4. Ajouter 100 µl de Biotine Anti-CA125 à chaque puits en utilisant une pipette de précision 100 µl (ou une pipette de précision 100 µl à 8 canaux). Eviter de passer au-dessus en maintenant l'embout de pipette légèrement au-dessus du haut du puits et éviter de toucher la barrette plastique ou la surface du liquide.
5. Incuber la plaque pendant 2h (+/- 10 mn) à température ambiante (20/25°C) avec une agitation constante de la plaque en utilisant un agitateur de plaque microtitre.
6. Après la première incubation, aspirer et laver chaque barrette 3 fois en utilisant la procédure de lavage, paragraphe 4, des Notes de procédure.
7. Ajouter 100 µl de Traceur, Solution de travail, à chaque puits en utilisant la même procédure qu'au paragraphe 4, ci-dessus.
8. Incuber le portoir pendant 1 heure (+/- 5 mn) à température ambiante (20/25°C) avec une agitation constante.
9. Après la deuxième incubation, aspirer et laver chaque barrette 6 fois en utilisant la procédure de lavage, paragraphe 4, des Notes de procédure.
10. Ajouter 100 µl de Substrat-TMB HRP, à chaque puits, en utilisant la même technique de pipetage qu'au paragraphe 4 ci-dessus. Le Substrat-TMB HRP doit être ajouté aux puits, le plus vite possible et le temps entre les additions du 1^{er} au dernier puits, ne doit pas dépasser 5 mn.
11. Incuber pendant 30 mn (+/- 5mn) à température ambiante avec une agitation constante. Eviter l'exposition directe à la lumière du jour.
12. Lire immédiatement l'absorbance à 620 nm sur un Spectrophotomètre pour plaque microtitre.

Option: Si le Laboratoire n'a pas accès à un Spectrophotomètre pour plaque microtitre capable de lire à 620 nm, l'absorbance peut être déterminée comme au paragraphe 12 ci-dessous.

12. Ajouter 100:1 de Solution d'Arrêt. Mélanger et lire l'absorbance à 405 nm dans un Spectrophotomètre pour plaque microtitre pendant les 15 mn suivant l'addition de la Solution d'Arrêt.

Intervalle de mesure

L'intervalle de mesure des concentrations du Test CanAg CA125 EIA est compris entre 1,5 et 500 U/ml. Si les concentrations en CA125, sont prévues d'être au-dessus de l'intervalle de mesure, il est recommandé de diluer les échantillons avec du CA125 Calibreur 0 avant l'analyse.

Contrôle Qualité

CA125 Contrôles, 1 et 2, doivent être utilisés pour la validation de séries de Test. L'intervalle des résultats attendus est indiqué sur les étiquettes des flacons. Si les valeurs obtenues sont en dehors de l'intervalle spécifié, un contrôle complet des réactifs et de la performance de lecture doit être fait et les analyses répétées. Chaque Laboratoire doit aussi préparer ses propres groupes de sérum à différents niveaux. Ils doivent être utilisés comme contrôle interne pour assurer la précision du Test.

Matériels de référence

Puisqu'il n'y a pas de matériel commun de référence pour l'Antigène CA125, les valeurs des Calibreurs de CanAg CA125 EIA sont opposées à une série de Standards de Référence maison.

CALCUL DES RESULTATS

Si un Spectrophotomètre pour plaque microtitre, avec calcul des données intégré, est utilisé, se référer au manuel du Spectrophotomètre et créer un programme utilisant la concentration signalée sur l'étiquette de chaque Calibreur CA125.

Pour un calcul automatique de résultat CA125, il est recommandé d'utiliser l'une ou l'autre des méthodes suivantes:

- La courbe de cannelure cubique correspond à la méthode. Le Calibreur 0 doit être inclus dans la courbe avec une valeur de 0 U/ml.
- La courbe lissée de la cannelure correspond à la méthode. Le Calibreur 0 doit être utilisé comme plaque témoin.
- Interpolation avec une évaluation point par point. Le Calibreur 0 doit être inclus dans la courbe avec la valeur 0 U/ml.
- La courbe quadratique correspond à la méthode. Le Calibreur 0 doit être inclus dans la courbe avec la valeur de 0 U/ml.

Note: Les méthodes d'évaluation, 4-Paramétrique et de Régression Linéaire ne doivent pas être utilisées.

Pour une évaluation manuelle, une courbe de calibrage est établie en restituant les valeurs d'absorbance (A) obtenues pour chaque Calibreur CA125, contre la concentration en CA125 correspondante (en U/ml). Voir graphique ci-dessous. Les concentrations en CA125 inconnues peuvent alors être lues sur la courbe de calibrage en utilisant la valeur moyenne de l'absorbance de chaque échantillon de patient.

Si les échantillons d'une analyse initiale donne des niveaux de CA125 au-dessus de 500 U/ml, il est nécessaire de diluer l'échantillon au 10 ème et au 100 ème avec du CA125 Calibreur 0 pour obtenir la concentration précise en CA125 dans les échantillons.

1/10 dilution = 50 µl d'échantillon + 450 µl de CA125 Calibreur 0

1/100 dilution = 50 µl de 1/10 dilution + 450 µl de CA125 Calibreur 0

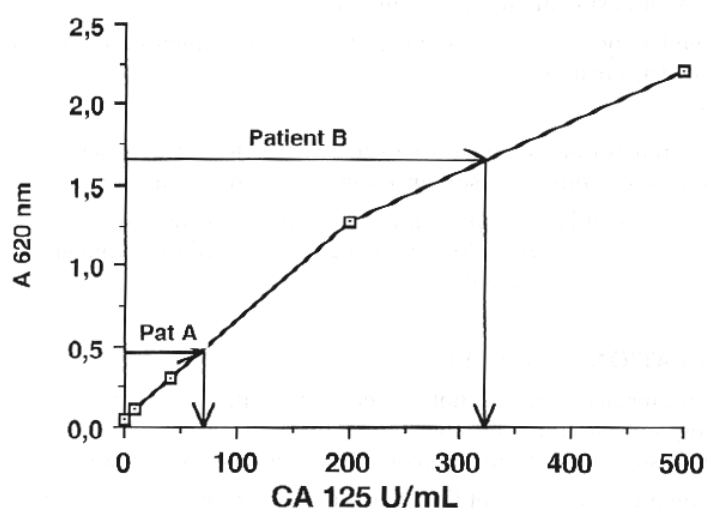
La concentration en CA125 de l'échantillon non dilué est alors calculée comme suit:

Dilution 1/10: 10 x Valeur mesurée

Dilution 1/100: 100 x Valeur mesurée

Exemple de résultats:

Calibreurs et Échantillons			Valeurs pour les Calibreurs	Valeur moyenne d'absorbance (A)	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	
Echantillon A				0,490	69,8
Echantillon B				1,650	325



Ceci est un exemple. Ne pas utiliser cette courbe pour déterminer des résultats de test.

LIMITES DE LA PROCEDURE

Le niveau de CA125 ne peut pas être utilisé comme évidence absolue de la présence ou de l'absence d'une maladie maligne et le Test CA125 ne doit pas être utilisé pour un dépistage du cancer.

Les résultats du Test doivent être interprétés, seulement en conjonction avec d'autres investigations et procédures, dans le diagnostique de maladie et la gestion de patients et le Test CA125 ne doit remplacer aucun examen clinique établi.

Les Anticorps anti-réactifs (anticorps humains anti-souris (HAMA) ou des anticorps hétérophylques) dans les échantillons de patient peuvent interférer occasionnellement avec le test, même si des agents bloquants, spécifiques sont inclus dans les tampons.

VALEURS ATTENDUES

CA125 ont été mesurés chez 100 donneurs de sang, femmes, en bonne santé.

La valeur moyenne obtenue est 14,7 U/ml avec une déviation standard de 7,7.

La valeur médiane est de 13,1 U/ml, échelle de 5,06 – 47,9 U/ml.

Le + bas et le + haut extrêmes de l'échelle normale ont été examinés en utilisant, IFCC non- paramétrique, traitement statistique recommandé.

L'intervalle de référence contient 95% de la fraction centrale de la distribution de référence.

Les limites de référence doivent être estimées en conséquence comme les 2,5 % (plus bas) et 97,5 % (+ haut) quantiles.

Ces limites isolent une fraction de 2,5 % des valeurs dans chaque queue de la distribution de référence.

Estimations non-paramétriques:

N=100

Fraction	Limites de Référence (U/mL)
2,5 th (+ bas)	5
97,5 th (+ haut)	39

96 % des femmes en bonne santé ont une valeur de Test en dessous de 35 U/ml.

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre échelle normale pour prendre en compte les facteurs environnementaux locaux comme le régime alimentaire, le climat, les conditions de vie, la sélection des patients, etc.

Il doit être notifié, que la propre ligne de base de résultats pour un patient individu, donne le plus important point de référence pour l'interprétation des résultats de marqueur (6).

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Précision

La précision totale est déterminée suivant les Directives NCCLS EP5-A (7) utilisant quatre niveaux de sérum congelés de groupes humains contenant du liquide d'ascites additionné.

Chaque échantillon est pipeté au hasard, (n=2/analyse) en double et analysé 2 fois par jour sur 10 jours. Les analyses sont menées pendant une période de 8 mois, par au moins 2 techniciens différents et en utilisant 10 différents lots de Kit CanAg CA125 EIA.

Échantillons	Répliques	Moyenne U/mL	Série SD (U/mL)	Série CV %	Entre-jour SD (U/mL)	Entre-jour CV %
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	201,0	8,25	4,3	7,58	3,8
CA125 4	40	392,0	11,40	2,9	15,50	4,0

Limite de détection

La limite de détection du Test CanAg CA125 EIA est inférieure à 1,5 U/ml.

Elle est définie comme la concentration correspondante à la moyenne des valeurs d'absorbance du CA125 Calibreur 0, plus 2 standards déviations suivant la formule:

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

Récupération

Des échantillons pointus sont préparés en ajoutant différents niveaux d'antigène humain CA125 à des échantillons normaux de sérum.

La récupération de l'antigène est dans l'intervalle 85 – 115 %.

Effet crochet

Il n'y a pas d'effet crochet pour des concentrations de CA125 au-dessus de 50 000 U/ml.

Note: dans des échantillons très concentrés, la couleur du substrat changera du bleu à légèrement vert et éventuellement jaune pour les échantillons extrêmement haut. Ceci donnerait des absorbances à 620 nm faussement basses et dans des cas extrêmes l'absorbance peut tomber dans l'intervalle de la courbe de calibrage et être considéré comme un crochet.

Linéarité

Des échantillons de patients sont dilués en série avec du CA125 Calibreur 0 et analysés.

Les valeurs obtenues sont dans l'intervalle 85 – 115 % des valeurs attendues.

Spécificité

Le Test CanAg CA125 EIA est basé sur deux anticorps monoclonaux de la souris, OV 197 et OV 185, dirigés contre deux 2 épitopes indépendants de la protéine principale de l'antigène CA125 (4). Les Directives NCCLS EP7-P (8) sont suivies pour déterminer les sources possibles d'interférence. Les substances suivantes avec leurs concentrations respectives, sont testées et trouvées comme n'interférant pas avec le Test.

	Concentration n'ayant pas d'interférence significative (+/-10%)
Lipémie (Intralipid®)	4 mg/mL
Bilirubine, non conjuguée	0,6 mg/mL
Hémoglobine	5 mg/mL

GARANTIE

Les données de performance, présentées ici, sont obtenues en utilisant la procédure de Test indiquée. Tout changement ou modification de la procédure, non recommandé par Fujirebio Diagnostics, peut affecter les résultats, dans ce cas, Fujirebio Diagnostics, rejette toutes les garanties exprimées, impliquées ou incluant statutairement la garantie impliquée de commercialisation et d'adaptation à l'utilisation.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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, Lindholm 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® est une Marque Déposée de Fujirebio Diagnostics AB

Fujirebio Diagnostics AB
Elof Lindälvs gata 13
SE-414 55 Göteborg
Sweden
Phone + 46 31-85 70 30
Fax + 46 31-85 70 40
info@fdab.com
www.fdab.com

