



HE4 EIA

REF

404-10

IVD



Οδηγίες χρήσης 2008-09

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	SEMNIȚAȚIA 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/Kölblük kuni/
 Utiliser jusque/Rok valjanosti/
 Felhasználható/Utilizzare entro/
 Sunaudoti iki/Izlietot līdz/Houdbaar
 tot/Brukes innen/Użyć przed/
 Prazo de validade/Expiră 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/
 Sarzszám/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/Dاتا на производство/Datum výroby/
Produktionsdato/Herstellungsdatum/
Ημερομηνία 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/Dátum výroby/Datum izdelave/
Datum proizvodnje/Üretim tarihi



Temperature limitation/
Температурни граници/
Теплотні обмеження/
Temperaturbegrænsning/
Temperaturbegrenzung/
Περιορισμοί θερμοκρασίας/
Limites de temperatura/
Temperatuuri piirang/
Limite de température/
Temperaturno ograničenje/
Hőmérsékletre vonatkozó korlátozás/
Limiti di temperatura/
Temperatūriniai apribojimai/
Temperatūras ierobežojums/
Temperaturbepæring/
Temperaturbegrensninger/
Temperaturey granične/
Limite de temperatura/
Limite de temperatură/
Температурный режим/
Temperaturbegrænsning/
Теплотне обмеження
Omejitve temperature/
Temperaturno ograničenje/
Sıcaklık sınırlaması/

IVD

In Vitro Diagnostic Medical Device/
Медицински уред за диагностика
ин витро/Лéкаřský 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 meditsiineseade/
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/
Medicinska 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/
Zdravotnička pomôcka na diagnostiku in vitro/
In vitro diagnostični pripomoček/
Diagnostički medicinski uređaj
In Vitro/<96> testleri için yeterlilik içir



Contains sufficient for <96> tests/Съдържа достатъчно количество за тестове <96>/
Lze použiť pro <96> testů/
Ineholder tilstrækkeligt/Inhalt ausreichend für <96> Prüfungen/
Περεχόμενο επαρκές για «96» εξετάσεις/
Contenido suficiente para <96> ensayos/
Kogusest piisab <96> testi läbiviimiseks/
Contenu suffisant pour «96» tests/
Sadži dovoljno za <96> testova/
A doboz tartalma <96> vizsgálat elvégzéséhez elegendő/
Contenuto sufficiente per «96» saggi/
Turiny skirtas atlikti <96> tyrimus/
Saturis 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>/Vsebina zadostuje za <96> testov/
Sadržina dovoljna za <96> testova/
<96> testleri için yeterlilik içir

REF

Catalogue number/Каталожен номер/
Katalogové číslo/Katalognummer/
Bestellnummer/Αριθμός καταλόγου/
Número de catálogo/Katalogi 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



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



Contents of kit/Съдържание на набора/
Obsah sady/Kittets inhold/Inhalt des
Kits/Περιεχόμενα του κιτ/Contenido
del kit/Komplekt sisaldab/Contenu du
kit/Sadržaj opreme/A készlet tartalma/
Contenuto 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/Biológická rizika/Biologisk
fare/Biologische Gefahren/Βιολογικοί
κίνδυνοι/Riesgos biológicos/
Biolooigilised ohud/Risques biologiques/
Biolóskli rizici/Biológiai kockázatok/Rischi
biologici/Biologinis pavojus/Biológiškais
risks/Biologische risico's/Biologische
risikoer/Zagroženie biologické/Riscos
biológicos/ Biologisk risk/Pericole
biologice/Биологическая опасность/
Biologický rizikové/Biologické riziká/
Biolóskli rizici/Biolojik riskler



Human/C човешки производ/Lidské/
Human/Human/δείγματα αναφοράς/
Humano/Inimāritolu/Humaine/Ljudskog
porjekla/Humán/Origine Umana/
Žmogaus kilmės/Cilvēku izcelsmes/
Human/Menneske/Ludzka/Humano/
Origine umână/Человеческого
происхождения/Human/Ludské/
Humanega izvora/Ljudskog porekla/İnsan



From mouse/C миши производ/Myši/
Fra mus/der Maus/από ποντίκι/de raton/
Hiirtelt/De souris/Mišijeg porjekla/
Egərböli/Murino/Pelės kilmės/No peles/
Van muizen/Fra mus/Mysia/Do rato/De
la șoareci/Мышиного происхождения/
Från mus/Myšije izvora/Mišijeg
porekla/Fareden



Bovine/C говежди производ/
Hovēži/Bovin/Rind/από βοοειδή/
Bovino/Veistelt/Bovine/Rogate stoke/
Szarvasmarha/Bovino/Jaučio/No
liellopa/Bovien/Bovini/Wolowy/Bovino/
Origine bovină/крупного рогатого
скота/Från ko/Hovädzje/Govejega
izvora/Rogate krupne stoke/Bovin



Reconstitute with/Разтваряне с/
Rozfeđe pomoci/Rekonstitueres med/
Rekonstituieren mit/Ανασύσταση με/
Reconstituir con/Lahjendamine/
Reconstituer avec/Rekonstituiraite s/
Feloldáshoz/Ricostituire con/LT/Atšķaidīt
ar/Reconstituție me/Rekonstitueres
med/Odtworzyć za pomocą/Reconstituir
com/A se reconstitui cu/Растворить в/
Rekonstituera med/Rozriedte pomocou/
Rekonstituiraite z/s/Rozinovo formiranje
sa/Yeniden oluşturalur



Manufacturer/Производитель/Výrobce/
Producent/Hersteller/Κατασκευαστής/
Fabricante/Tootja/Fabricant/Proizvođač/
Gyártó/Fabbricante/Gamintojas/
Ražotājs/Fabrikant/Producent/
Producent/Fabrikant/Producător/
Производитель/Тилverkare/ Výrobca/
Izdevalavec/Proizvođač/Üretici

HE4 EIA

REF

404-10

Οδηγίες χρήσης

Κιτ δοκιμής ενζυματικής ανοσομέτρησης
για 96 προσδιορισμούς

ΣΚΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

Η HE4 EIA είναι μια δοκιμή ενζυματικής ανοσομέτρησης για τον ποσοτικό προσδιορισμό της HE4 στον ανθρώπινο ορό. Η δοκιμή προορίζεται για χρήση ως βοήθημα για την παρακολούθηση της απόκρισης σε θεραπεία η οποία χορηγείται σε ασθενείς που πάσχουν από επιθετικό επιθηλιακό καρκίνο των ωοθηκών. Η σειρά εξετάσεων για τιμές δοκιμής HE4 σε ασθενή θα πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλες κλινικές μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την παρακολούθηση του καρκίνου των ωοθηκών.

Προορίζεται επίσης για χρήση σε συνδυασμό με την ARCHITECT CA 125 II ή την CanAg CA125 EIA ως βοήθημα για την εκτίμηση του κινδύνου επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών σε προεμμηνοπαυσικές και μετεμμηνοπαυσικές γυναίκες που παρουσιάζουν πυελική μάζα. Τα αποτελέσματα πρέπει να ερμηνευθούν σε συνδυασμό με άλλες μεθόδους, σύμφωνα με τις τυπικές οδηγίες κλινικής διαχείρισης.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Η ανθρώπινη πρωτεΐνη επιδιδυμίδας 4 (HE4) ανήκει στην οικογένεια όξινων πρωτεϊνών διθειούχου ηερύνα τύπου τέσσερα (WFDC) με ύποπτες ιδιότητες αναστολέα τρυψίνης. Άλλες πρωτεΐνες σε αυτή την οικογένεια είναι οι SLPI, Elafin και PS20 (WFDC1) (1, 2). Το γονίδιο HE4 κωδικοποιεί για πρωτεΐνη μοριακού βάρους 13 kD, αν και στην ώριμη γλυκοζυωμένη μορφή, η πρωτεΐνη έχει μοριακό βάρος περίπου 20-25 kD, και αποτελείται από ένα πεπτίδιο που περιέχει δύο τμήματα WFDC (3). Η HE4 αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά στο επιθήλιο της άπω επιδιδυμίδας και αρχικά είχε προβλεφθεί ότι αποτελεί αναστολέα πρωτεάσης που εμπλέκεται στην ωρίμανση του σπέρματος (4, 5). Από τότε, έχει αναφερθεί ότι η HE4 εκφράζεται σε αρκετούς φυσιολογικούς ιστούς, συμπεριλαμβανομένων των επιθελίων ιστών του αναπνευστικού και αναπαραγωγικού

συστήματος, και επίσης σε ιστό καρκίνου των ωοθηκών (6-10). Εκτός από την έκφραση σε κυτταρικό επίπεδο, έχουν εντοπιστεί υψηλά επίπεδα εκκρινόμενης HE4 στον ορό ασθενών που πάσχουν από καρκίνο των ωοθηκών. Σε μια μελέτη περίπτωσης/ελέγχου που σύγκρινε ασθενείς με καρκίνο των ωοθηκών με υγιείς και καλοήθεις καταστάσεις, οι Hellström et al. βρήκαν ότι η HE4 εντόπιζε καρκίνος των ωοθηκών με ευαισθησία 67% σε επίπεδο ειδικότητας 96% (11). Σε επακόλουθη μελέτη που αξιολογούσε έναν αριθμό γνωστών βιοδεικτών για καρκίνο των ωοθηκών, η HE4 εμφάνισε την υψηλότερη ευαισθησία για τον εντοπισμό καρκίνου των ωοθηκών, ιδιαίτερα σε πρώιμα στάδια της νόσου. Σε αυτή τη μελέτη, ο συνδυασμός HE4 και CA 125 υπήρξε πιο ακριβής δείκτης πρόβλεψης κακοήθειας από οποιοδήποτε μεμονωμένο δείκτη, με ευαισθησία 76% και ειδικότητα 95% (12).

Ο καρκίνος των ωοθηκών είναι η τέταρτη συχνότερη αιτία θανάτου για γυναίκες παγκοσμίως. Στην Ευρώπη, το ποσοστό θνησιμότητας κυμαίνεται μεταξύ 3,6 έως 9,3 ανά 100.000 γυναίκες (13). Τα συμπτώματα που καρκίνου των ωοθηκών σχετίζονται με την παρουσία εξαρτηματικών όγκων και είναι συχνά αόριστα και μη συγκεκριμένα. Ο κύριος στόχος της διαγνωστικής εκτίμησης ενός εξαρτηματικού όγκου είναι να προσδιοριστεί αν πρόκειται για καλοήγη ή κακοήγη. Υπολογίζεται ότι 5 έως 10% των γυναικών στις ΗΠΑ θα υποστούν χειρουργική επέμβαση για ύποπτο νεόπλασμα των ωοθηκών κατά τη διάρκεια της ζωής τους, και το 13 με 21% αυτών των γυναικών θα βρεθεί ότι πάσχει από κάποια κακοήθεια των ωοθηκών (14). Η αμερικανική ενημερωτική έκδοση American College of Obstetricians and Gynecologists Practice Bulletin που δημοσιεύτηκε το 2007 δηλώνει το εξής: "Οι γυναίκες με καρκίνο των ωοθηκών, τη φροντίδα των οποίων διαχειρίζονται ιατροί με εξελιγμένη εκπαίδευση και εμπειρία στη θεραπεία γυναικών με καρκίνο των ωοθηκών, όπως γυναικολόγοι-ογκολόγοι, παρουσιάζουν βελτιωμένα συνολικά ποσοστά επιβίωσης σε σύγκριση με όσες είχαν λάβει θεραπεία χωρίς τέτοια υποστήριξη." (15). Καθώς οι εξαρτηματικοί όγκοι είναι στην πλειονότητα καλοήθεις, είναι σημαντικό να προσδιοριστεί μετεγχειρητικά αν η ασθενής διατρέχει υψηλό κίνδυνο για κακοήθεια των ωοθηκών, ώστε να διασφαλιστεί η κατάλληλη διαχείριση (15). Από την αρχική αναφορά το 1988, η κλινική εντύπωση, ο ορός CA125 και οι υπέρηχοι σε συνδυασμό με τοπογραφία CT, MRI και CT/PET αποτελούν τυπικές διαδικασίες για να προσδιοριστεί αν ένας εξαρτηματικός όγκος είναι ύποπτος για κακοήθεια (16). Αν και η βιβλιογραφία είναι γεμάτη με μελέτες που περιγράφουν ποιος τρόπος είναι ο πιο ακριβής, ο συνδυασμός φυσικής εξέτασης, CA125 και απεικόνισης εξασφαλίζει την υψηλότερη θετική τιμή πρόβλεψης (17-19).

Για βελτίωση της επιλογής ασθενών που παρουσιάζουν πνευλική μάζα, πρέπει να χρησιμοποιηθεί η HE4 EIA σε συνδυασμό με δοκιμή ARCHITECT CA 125 II ή CanAg CA125 EIA ως βοήθημα για την εκτίμηση του κινδύνου επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών που μπορεί να διατρέχει η ασθενής. Τα αποτελέσματα πρέπει να ερμηνευθούν σε συνδυασμό με άλλες μεθόδους, σύμφωνα με τυπικές οδηγίες κλινικής διαχείρισης. Μια πρόσθετη χρήση της HE4 EIA είναι ως βοήθημα για την παρακολούθηση της απόκρισης σε θεραπεία που χορηγείται σε ασθενείς οι οποίοι πάσχουν από επιθετικό επιθηλιακό καρκίνο των ωοθηκών. Αυτά τα αποτελέσματα θα πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με άλλες κλινικές μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την παρακολούθηση του καρκίνου των ωοθηκών.

ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Η HE4 EIA είναι μια ανοσολογική μη-ανταγωνιστική δοκιμή στέρεας φάσης, η οποία βασίζεται στην άμεση τεχνική τύπου σάντουιτς με τη χρήση δύο μονοκλωνικών αντισωμάτων ποντικίου, τα 2H5 και 3D8, τα οποία στοχεύονται ενάντια σε δύο επίτοπα στο τμήμα C-WFDC της HE4. Οι βαθμονομητές, τα υλικά ελέγχου και τα δείγματα ασθενούς επωάζονται μαζί με βιοτινυλιωμένο μονοκλωνικό αντίσωμα (MAb) anti-HE4 της 2H5 σε microstrip με επικάλυψη στρεπταβιδίνης. Η HE4 που υπάρχει σε βαθμονομητές ή δείγματα απορροφάται στα microstrip με επικάλυψη στρεπταβιδίνης από το βιοτινυλιωμένο μονοκλωνικό αντίσωμα anti-HE4 κατά τη διάρκεια της επώασης. Τα strip πλένονται και επωάζονται με μονοκλωνικό αντίσωμα anti-HE4 3D8 και υπεροξειδάση από ραφανίδα (HRP-labelled). Μετά την πλύση, το ρυθμιστικό αντιδραστήριο υποστρώματος/χρωμογόνου (υπεροξειδίου του υδρογόνου και 3, 3', 5, 5' τετραμεθυλοβενζιδίνη) προστίθεται σε κάθε βιοθρίο και επιτρέπει να προχωρήσει η αντίδραση ενζύμου. Κατά την αντίδραση ενζύμου, εμφανίζεται μπλε χρώμα παρουσία αντιγόνου. Η ένταση του χρώματος είναι ευθέως ανάλογη προς την ποσότητα HE4 στα δείγματα. Η ένταση του χρώματος προσδιορίζεται σε φασματοφωτόμετρο μικροπλακών σε μήκος κύματος 620 nm (ή προαιρετικά σε μήκος κύματος 405 nm μετά την προσθήκη διαλύματος τερματισμού).

Οι καμπύλες βαθμονόμησης δημιουργούνται για κάθε δοκιμή με τη γραφική αναπαράσταση των τιμών απορρόφησης έναντι της συγκέντρωσης για κάθε βαθμονομητή. Οι συγκεντρώσεις της HE4 στα δείγματα ασθενούς λαμβάνονται από την καμπύλη βαθμονόμησης.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- Κάθε κιτ HE4 EIA περιέχει αντιδραστήρια για 96 δοκιμές.
- Η ημερομηνία λήξης του κιτ αναγράφεται στην ετικέτα, στο εξωτερικό της συσκευασίας του κιτ.
- Μην χρησιμοποιήσετε το κιτ μετά την ημερομηνία λήξης.
- Μην αναμειγνύετε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες κιτ.
- Αποθηκεύστε τα κιτ σε θερμοκρασία 2–8°C. Μην καταψύχετε.
- Τα ανοιγμένα αντιδραστήρια είναι σταθερά σύμφωνα με τον πίνακα παρακάτω, με την προϋπόθεση ότι δεν έχουν μολυνθεί, αποθηκευθεί σε επανασφραγισμένα αρχικά δοχεία και ότι ο χειρισμός γίνεται σύμφωνα με τις οδηγίες. Πρέπει να γίνει επαναφορά σε θερμοκρασία 2-8°C αμέσως μετά τη χρήση.

Συστατικό	Ποσότητα	Αποθήκευση και σταθερότητα μετά το πρώτο άνοιγμα
-----------	----------	--

MICROPLA

**Μικροπλάκα
στρεπταβιδίνης**

1 πλάκα

2–8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης
που αναγράφεται στην πλάκα

12 x 8 αποσπώμενα βοθρία με επικάλυψη στρεπταβιδίνης. Μετά το άνοιγμα, επιστρέψτε αμέσως τα αχρησιμοποιήτα strips στο αλουμινένιο δοχείο που περιέχει αφυγραντικό. Σφραγίστε ξανά προσεχτικά για να διατηρηθούν στεγνά.

CAL	HE4	A
-----	-----	---

Βαθμονομητής HE4 A

1 x 8 mL

2–8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης
που αναγράφεται στο φιαλίδιο

Αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει λευκωματίνη βόειου ορού, αδρανή κίτρινη βαφή και αντιμικροβιακό συντηρητικό χωρίς αζίδιο. Έτοιμο για χρήση. Θα πρέπει επίσης να χρησιμοποιηθεί για την αραίωση των δειγμάτων.

Συστατικό	Ποσότητα	Αποθήκευση και σταθερότητα μετά το πρώτο άνοιγμα			
Βαθμονομητές HE4 B-F	5 φιαλίδια, λυοφιλοποιημένα	Σταθερότητα μετά την ανασύσταση 4 εβδομάδες σε 2-8°C 4 μήνες σε -20°C ή χαμηλότερα			
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>HE4</td><td>B</td></tr></table>	CAL	HE4	B	1 x 1 mL	
CAL	HE4	B			
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>HE4</td><td>C</td></tr></table>	CAL	HE4	C	1 x 1 mL	
CAL	HE4	C			
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>HE4</td><td>D</td></tr></table>	CAL	HE4	D	1 x 1 mL	
CAL	HE4	D			
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>HE4</td><td>E</td></tr></table>	CAL	HE4	E	1 x 1 mL	
CAL	HE4	E			
<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>HE4</td><td>F</td></tr></table>	CAL	HE4	F	1 x 1 mL	
CAL	HE4	F			

Οι λυοφιλοποιημένοι βαθμονομητές περιέχουν αντιγόνο HE4 σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών ιόντων που περιέχει λευκωματίνη βόειου ορού, αδρανή κίτρινη βαφή και αντιμικροβιακό συντηρητικό χωρίς αζίδιο. Να ανασυσταθεί με απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό πριν από τη χρήση.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Η ακριβής συγκέντρωση HE4 εξαρτάται από την παρτίδα και δηλώνεται στην ετικέτα κάθε φιαλιδίου.

Υλικά ελέγχου HE4	2 φιαλίδια, λυοφιλοποιημένα	Σταθερότητα μετά την ανασύσταση 4 εβδομάδες σε 8°C 4 μήνες σε -208°C ή χαμηλότερα
--------------------------	-----------------------------	---

CONTROL	HE4	1	1 x 1 mL
----------------	------------	----------	----------

CONTROL	HE4	2	1 x 1 mL
----------------	------------	----------	----------

Τα λυοφιλοποιημένα υλικά ελέγχου περιέχουν αντιγόνο HE4 σε μήτρα ανθρώπινου ορού και αντιμικροβιακό συντηρητικό χωρίς αζίδιο. Να ανασυσταθεί με απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό πριν από τη χρήση.

BIOTIN	Anti-HE4
---------------	-----------------

Anti-HE4 βιοτίνης	1 x 15 mL	2—8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο
--------------------------	-----------	--

Μονοκλωνικό αντίσωμα anti-HE4 βιοτίνης από ποντίκι, περίπου 1 µg/mL. Περιέχει ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών ιόντων (pH 7,2), λευκωματίνη βόειου ορού, ανασταλτικούς παράγοντες, απορροπταντικό, αδρανή κόκκινη βαφή και αντιμικροβιακό συντηρητικό χωρίς αζίδιο. Έτοιμο για χρήση.

Συστατικό	Ποσότητα	Αποθήκευση και σταθερότητα μετά το πρώτο άνοιγμα
-----------	----------	--

CONJ	Anti-HE4
------	----------

Ιχνηθέτης, HRP anti-HE4	1 x 0,75 mL	2—8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο
-------------------------	-------------	---

Μητρικό διάλυμα μονοκλωνικού αντισώματος HRP anti-HE4 από ποντίκι, κατά προσέγγιση 40 µg/mL. Περιέχει αντιμικροβιακά συντηρητικά χωρίς αζίδιο. Να αραιωθεί με αραιωτικό ιχνηθέτη πριν από τη χρήση.

DIL	CONJ
-----	------

Αραιωτικό ιχνηθέτη	1 x 15 mL	2—8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο
--------------------	-----------	---

Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών ιόντων (pH 7,2) με λευκωματίνη βόειου ορού, ανασταλτικούς παράγοντες, απορρυπαντικά, αδρανή μπλε βαφή και αντιμικροβιακό συντηρητικό χωρίς αζίδιο. Έτοιμο για χρήση.

SUBS	TMB
------	-----

TMB υποστρώματος HRP	1 x 12 mL	2—8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο
----------------------	-----------	---

Περιέχει ρυθμιστικό υπεροξειδίο του υδρογόνου και 3, 3', 5, 5' τετραμεθυλοβενζιδίνη (TMB). Έτοιμο για χρήση.

STOP

Διάλυμα τερματισμού	1 x 15 mL	2—8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο
---------------------	-----------	---

Περιέχει 0,12 M υδροχλωρικού οξέος. Έτοιμο για χρήση.

Συστατικό σταθερότητα	Ποσότητα	Αποθήκευση και μετά το πρώτο άνοιγμα
WASHBUF 25X		
Συμπύκνωμα πλύσης	1 x 50 mL	2—8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη φιάλη

Αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα με Tris-HCl με Tween 20. Περιέχει Germall II ως συντηρητικό. Να αραιωθεί με απεσταγμένο ή απιονισμένο νερού πριν από τη χρήση.

Ενδείξεις αστάθειας

Το TMB υποστρώματος HRP θα πρέπει να είναι άχρωμο ή ελαφρώς κυανόχρουν. Το μπλε χρώμα δηλώνει ότι το αντιδραστήριο έχει μολυνθεί και θα πρέπει να απορριφθεί.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Για διαγνωστική χρήση in vitro:

- Ακολουθήστε τις οδηγίες στο ένθετο συσκευασίας. Η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων δοκιμής δεν είναι εγγυημένη αν σημειωθούν παρεκκλίσεις από τις οδηγίες στο ένθετο συσκευασίας.
- Χειριστείτε όλα τα δείγματα ασθενούς σαν να ήταν εν δυνάμει μολυσματικά. Συνιστάται ο χειρισμός των αντιδραστηρίων ανθρώπινης προέλευσης και των ανθρώπινων δειγμάτων να γίνεται σύμφωνα με το πρότυπο περί αιματογενώς μεταδιδόμενων παθογόνων του OSHA (20). Για υλικό που περιέχει ή υπάρχει υποψία ότι περιέχει μολυσματικούς παράγοντες, θα πρέπει να χρησιμοποιείται επίπεδο βιοασφάλειας (21) ή άλλες κατάλληλες πρακτικές βιοασφάλειας.
- Ακολουθήστε τις τοπικές κατευθυντήριες οδηγίες για την απόρριψη των αποβλήτων.

Προσοχή

Το υλικό που χρησιμοποιείται για την προετοιμασία αντιδραστηρίου ανθρώπινης προέλευσης έχει δοκιμαστεί και βρέθηκε ότι δεν αντιδρά για το αντίσωμα έναντι του HIV 1 και 2, το αντίσωμα έναντι της Ηπατίτιδας C (HCV) και το αντιγόνο επιφανείας Ηπατίτιδας Β (HBsAg). Καθώς καμία μέθοδος δεν μπορεί να αποκλείσει εντελώς την παρουσία αιματογενώς μεταδιδόμενων νοσημάτων, ο χειρισμός και η απόρριψη των αντιδραστηρίων ανθρώπινης προέλευσης από αυτό το προϊόν θα πρέπει να γίνεται σαν να ήταν εν δυνάμει μολυσματικά.

ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Το HE4 EIA προορίζεται για χρήση με ορό (συμπεριλαμβανομένου ορού που συλλέγεται σε σωλήνες διαχωρισμού (SST)). Το πλάσμα και άλλα σωματικά υγρά δεν έχουν επικυρωθεί για χρήση με το HE4 EIA. Συλλέξτε αίμα με φλεβοκέντηση και ακολουθήστε τις οδηγίες επεξεργασίας του κατασκευαστή των σωλήνων συλλογής. Όταν γίνεται η αξιολόγηση σειριακών δειγμάτων, ο ίδιος τύπος δείγματος θα πρέπει να χρησιμοποιείται για ολόκληρη τη μελέτη.

Ο ορός μπορεί να αποθηκευθεί στους 2—8°C για 3 ημέρες πριν από τη δοκιμή. Για μεγαλύτερες περιόδους, αποθηκεύστε τα δείγματα σε θερμοκρασία -40 ή χαμηλότερη.

Αφήστε τα κατεψυγμένα δείγματα να αποκτήσουν τη θερμοκρασία δωματίου και αναμείξτε ΕΚΤΕΝΩΣ αναστρέφοντας με απαλές κινήσεις αρκετές φορές πριν από την ανάλυση. Δείγματα που περιέχουν μεγάλα σωματίδια θα πρέπει να φυγοκεντρηθούν με 10.000 x g για 10 λεπτά, πριν από τη χρήση ώστε να εξαιρεθεί η σωματιδιακή ύλη που μπορεί να αναπτύχθηκε από τη διαδικασία της απόψυξης.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Υλικά που απαιτούνται, αλλά δεν παρέχονται στο kit

1. Αναδευτήρας μικροπλακών

Η ένταση της ανάδευσης πρέπει να είναι μέτρια έως έντονη, περίπου 700-1100 ταλαντώσεις/ min.

2. Πλυστικό μικροπλάκας

Αυτόματο πλυστικό πλάκας που εκτελεί 1, 3 και 6 κύκλους πλύσης με ελάχιστο όγκο πλήρωσης 350 μL/βοθρίο/κύκλο πλύσης.

Προτείνεται μια πιπέτα 8 καναλιών με αναλώσιμα πλαστικά ρύγγη για την παροχή 50 μL αν δεν χρησιμοποιείται αυτόματα πλυστικό μικροπλάκας.

3. Φασματοφωτόμετρο μικροπλακών

Με μήκος κύματος 620 nm ή/και 405 nm και περιοχή απορρόφησης 0 έως 3,0.

4. Πιπέτες ακριβείας

Με αναλώσιμα πλαστικά ρύγγη για την παροχή όγκων σε μικρολίτρα. Προτείνεται, αλλά δεν είναι απαραίτητη, πιπέτα 8 καναλιών ή η πιπέτα διανομής με αναλώσιμα πλαστικά ρύγγη για την παροχή 100 μL. Πιπέτες για παροχή όγκων σε χιλιοστόλιτρα.

5. Απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό

Για την ανασύσταση βαθμονομητών HE4, υλικών ελέγχου HE4 και για παρασκευή αραιωμένου διαλύματος πλύσης.

Σημειώσεις διαδικασίας

1. Απαιτείται πλήρης κατανόηση του ένθετου σε αυτό το πακέτο για να διασφαλιστεί η σωστή χρήση του kit HE4 EIA. Τα αντιδραστήρια που παρέχονται με το kit, προορίζονται για χρήση ως ενιαία μονάδα. Μην αναμειγνύετε πανομοιότυπα αντιδραστήρια από kit με διαφορετικούς αριθμούς παρτίδας. Μην χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια kit μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο εξωτερικό της συσκευασίας του kit.
2. Τα αντιδραστήρια θα πρέπει να αποκτήσουν τη θερμοκρασία δωματίου (20–25°C) πριν από τη χρήση. Τα κατεψυγμένα δείγματα πρέπει να αναμειχθούν διεξοδικά με απαλές κινήσεις μετά την απόψυξη. **Η δοκιμή θα πρέπει να διεξαχθεί μόνο σε θερμοκρασίες**

μεταξύ 20—25°C για την απόκτηση αποτελεσμάτων ακριβείας.

3. Πριν ξεκινήσετε τη χορήγηση βαθμονομητών και δειγμάτων ασθενούς με πιπέτα, συνιστάται να σημειώσετε τα strip ώστε να μπορέσετε να αναγνωρίσετε τα δείγματα πριν και μετά τη δοκιμή.
4. Η απαίτηση για επιμελή και διεξοδική πλύση για διαχωρισμό του δεσμευμένου και αδέσμευτου αντιγόνου και των αντιδραστηρίων από τα συμπλέγματα δεσμευμένου αντισώματος-αντιγόνου στερεάς φάσης είναι ένα από τα σημαντικότερα βήματα σε μια EIA. **Για να διασφαλιστεί η αποτελεσματική πλύση, βεβαιωθείτε ότι όλα τα βοθρία πληρούνται πλήρως με διάλυμα πλύσης κατά τη διάρκεια κάθε κύκλου πλύσης, ότι το διάλυμα πλύσης παρέχεται με καλή ροή, ότι η αναρρόφηση των βοθρίων μεταξύ και μετά τους κύκλους πλύσης είναι πλήρης και ότι τα βοθρία είναι κενά. Αν έχει απομείνει υγρό, αναστρέψτε την πλάκα και χτυπήστε την προσεχτικά πάνω σε απορροφητικό χαρτί.**
 - Αυτόματο πλυτικό strip: Ακολουθήστε τις οδηγίες του κατασκευαστή για τον ενδελεχή καθαρισμό και τη συντήρηση. Πλύντε με τον απαραίτητο αριθμό κύκλων πλύσης πριν και μετά από κάθε βήμα επώασης. Η συσκευή αναρρόφησης/πλύσης δεν πρέπει να παραμένει με το διάλυμα πλύσης για μεγάλες περιόδους, καθώς οι βελόνες μπορεί να φράξουν, με αποτέλεσμα ανεπαρκή παροχή και αναρρόφηση υγρού.
5. Το TMB υποστρώματος HRP είναι πολύ ευαίσθητο σε μόλυνση. Για βέλτιστη σταθερότητα του TMB υποστρώματος HRP, χύστε την απαραίτητη ποσότητα από το φιαλίδιο σε διεξοδικά καθαρισμένο δοχείο ή κατά προτίμηση σε αναλώσιμο πλαστικό δίσκο, για αποφυγή μόλυνσης του αντιδραστηρίου. Βεβαιωθείτε ότι χρησιμοποιείτε αναλώσιμα πλαστικά ρύγχη πιπέτων (ή ρύγχος πιπέτας διανομής).
6. Βεβαιωθείτε ότι χρησιμοποιείτε καθαρά αναλώσιμα πλαστικά ρύγχη πιπέτας και κατάλληλη τεχνική ακριβείας για παροχή με πιπέτα κατά το χειρισμό δειγμάτων και αντιδραστηρίων. Μην αφήσετε το ρύγχος της πιπέτας να αγγίξει την επιφάνεια του υγρού για να αποτρέψετε τη μεταφορά υλικού. Η κατάλληλη τεχνική παροχής με πιπέτα είναι ιδιαίτερα σημαντική κατά το χειρισμό των δειγμάτων και του διαλύματος TMB υποστρώματος HRP.

Παρασκευή αντιδραστηρίων

Σταθερότητα του παρασκευασμένου αντιδραστηρίου

Βαθμονομητές HE4 B-F

4 εβδομάδες σε 2-8°C

4 μήνες σε -20°C ή χαμηλότερα

Προσθέστε ακριβώς 1,0 mL απεσταγμένου ή απιονισμένου νερού σε κάθε φιαλίδιο. Αφήστε το να ηρεμήσει τουλάχιστον 15 λεπτά για ανασύσταση και αναμείξτε απαλά πριν από τη χρήση. ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Η συγκέντρωση των βαθμονομητών αναφέρεται στις ετικέτες και θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί για υπολογισμό των αποτελεσμάτων.

Υλικά ελέγχου HE4 1 και 2

4 εβδομάδες στους 2–8°C
4 μήνες σε -20°C ή χαμηλότερα

Προσθέστε ακριβώς 1,0 mL απεσταγμένου ή απιονισμένου νερού σε κάθε φιαλίδιο και αναμείξτε με απαλές κινήσεις. Αφήστε το να ηρεμήσει τουλάχιστον 15 λεπτά για ανασύσταση και αναμείξτε απαλά πριν από τη χρήση. ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Το εύρος των υλικών ελέγχου αναγράφονται στις ετικέτες.

Διάλυμα πλύσης

2 εβδομάδες στους 2–25°C σε
σφραγισμένο δοχείο

Χύστε το συμπύκνωμα πλύσης 50 mL σε καθαρό δοχείο και αραιώστε 25 φορές με την προσθήκη 1200 mL απεσταγμένου ή απιονισμένου νερού για τη δημιουργία ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης.

Διάλυμα ιχνηθέτη εργασίας

4 εβδομάδες στους 2–8°C σε
σφραγισμένο δοχείο

Προετοιμάστε την απαραίτητη ποσότητα διαλύματος ιχνηθέτη εργασίας αναμειγνύοντας 50 μ L ιχνηθέτη, HRP anti-HE4 με 1 mL αραιωτικού ιχνηθέτη ανά strip (δείτε τον πίνακα παρακάτω):

Ap. strip	Ιχνηθέτης, HRP anti-HE4 (μ L)	Αραιωτικό ιχνηθέτη (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

Πρέπει να χρησιμοποιηθεί καθαρός πλαστικός ή γυάλινος σωλήνας για την παρασκευή του διαλύματος ιχνηθέτη εργασίας.

Εναλλακτική: Χύστε το περιεχόμενο του ιχνηθέτη, HRP anti-HE4 στο φιαλίδιο του αραιωτικού ιχνηθέτη και αναμείξτε απαλά. Βεβαιωθείτε ότι όλο το περιεχόμενο στο φιαλίδιο ιχνηθέτη, HRP anti-HE4 μεταφέρεται στο φιαλίδιο του αραιωτικού ιχνηθέτη.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Το διάλυμα ιχνηθέτη εργασίας είναι σταθερό για 4 εβδομάδες στους 2–8°C. Μην παρασκευάσετε περισσότερο διάλυμα ιχνηθέτη εργασίας από την ποσότητα που θα χρησιμοποιηθεί εντός αυτής της περιόδου και βεβαιωθείτε ότι έχει αποθηκευθεί σωστά.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΟΚΙΜΗΣ

Πραγματοποιήστε κάθε προσδιορισμό δύο φορές για βαθμονομητές, υλικά ελέγχου και άγνωστα δείγματα. Η καμπύλη βαθμονόμησης θα πρέπει να εκτελείται με κάθε δοκιμή. Όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα πρέπει να αποκτούν τη θερμοκρασία δωματίου (20–25°C) πριν από τη χρήση.

- Ξεκινήστε με την παρασκευή των βαθμονομητών B-F, των υλικών ελέγχου 1 και 2, του διαλύματος πλύσης και του διαλύματος ιχνηθέτη εργασίας. Είναι σημαντικό να χρησιμοποιούνται καθαρά δοχεία. Ακολουθήστε τις οδηγίες με προσοχή.
- Μεταφέρετε τον απαιτούμενο αριθμό strip μικροπλάκας σε ένα πλαίσιο strip. (Τοποθετήστε αμέσως τα υπόλοιπα strip στο αλουμινένιο δοχείο που περιέχει αφυγραντικό και σφραγίστε ξανά με προσοχή). Πλύντε κάθε strip μία φορά με το διάλυμα πλύσης. Μην πλύνετε περισσότερα strip από όσο είναι δυνατόν σε 30 λεπτά.
- Χορηγήστε με πιπέτα 25 μ L κάθε βαθμονομητή HE4 (CAL A, B, C, D, E και F), τα υλικά ελέγχου HE4 (C1, C2) και τα άγνωστα δείγματα (Unk) στα βοηθία των strip σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα:

	1	2	3	4	5	6	7 κ.λπ.
A	Cal A	Cal E	1o Unk				
B	Cal A	Cal E	1o Unk				
C	Cal B	Cal F	2o Unk				
D	Cal B	Cal F	2o Unk				
E	Cal C	C1					
F	Cal C	C1					
G	Cal D	C2					
H	Cal D	C2					

4. Προσθέστε 100 μL anti-HE4 βιοτίνης σε κάθε βοθρίο με τη χρήση πιπέτας ακριβείας 100 μL (ή πιπέτας ακριβείας 100 μL με 8 κανάλια). Μην αφήσετε το ρύγχος της πιπέτας να αγγίξει την επιφάνεια του υγρού για να αποτρέψετε τη μεταφορά υλικού.
5. Επώαστε την πλάκα για 1 ώρα (\pm 10 λεπτά) σε θερμοκρασία δωματίου (20–25°C) με διαρκή ανάδευση της πλάκας χρησιμοποιώντας αναδευτήρα μικροπλάκας.
6. Μετά την πρώτη επώαση, αναρροφήστε και πλύντε κάθε strip 3 φορές χρησιμοποιώντας τη διαδικασία πλύσης που περιγράφεται στις σημειώσεις διαδικασίας, σημείο 4.
7. Προσθέστε 100 μL διαλύματος ιχνηλάτη εργασίας σε κάθε βοθρίο. Χρησιμοποιήστε την ίδια διαδικασία παροχής με πιπέτα όπως και στο σημείο 4 παραπάνω.
8. Επώαστε το πλαίσιο για 1 ώρα (\pm 5 λεπτά) σε θερμοκρασία δωματίου (20–25°C) με διαρκή ανάδευση.
9. Μετά τη δεύτερη επώαση, αναρροφήστε και πλύντε κάθε strip 6 φορές χρησιμοποιώντας τη διαδικασία πλύσης που περιγράφεται στις σημειώσεις διαδικασίας, σημείο 4.
10. Προσθέστε 100 μL του TMB υποστρώματος HRP σε κάθε βοθρίο με τη χρήση της ίδιας τεχνικής παροχής με πιπέτα, όπως περιγράφεται στο στοιχείο 4 παρακάτω.
Το TMB υποστρώματος HRP θα πρέπει να προστεθεί σε βοθρίο το συντομότερο δυνατό και ο χρόνος μεταξύ της προσθήκης στο πρώτο και το τελευταίο βοθρίο δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 5 λεπτά.
11. Επώαστε για 30 λεπτά (\pm 5 λεπτά) σε θερμοκρασία δωματίου (20–25°C) με διαρκή ανάδευση. Αποφύγετε την έκθεση στο άμεσο ηλιακό φως.
12. Καταγράψτε αμέσως την απορρόφηση σε μήκος κύματος 620 nm σε φασματοφωτόμετρο μικροπλακών.

Προαιρετικά

Αν το εργαστήριο δεν έχει πρόσβαση σε μετρητή μικροπλακών που να είναι ικανός για μετρήσεις σε μήκος κύματος 620 nm, η απορρόφηση μπορεί να καθοριστεί όπως περιγράφεται στο εναλλακτικό σημείο 12 παρακάτω:

Alt. 12. Προσθέστε 100 μL διαλύματος τερματισμού, αναμείξτε και μετρήστε την απορρόφηση σε μήκος κύματος 405 nm σε φασματοφωτόμετρο μικροπλακών εντός 15 λεπτών από την προσθήκη του διαλύματος τερματισμού.

Περιοχή τιμών μέτρησης

Το HE4 EIA μετράει συγκεντρώσεις μεταξύ 15 και 900 pM. Αν αναμένονται συγκεντρώσεις HE4 πάνω από την περιοχή μέτρησης, συνιστάται η αραιώση των δειγμάτων με βαθμονομητή HE4A πριν από την ανάλυση (δείτε την ενότητα "Υπολογισμός των αποτελεσμάτων με αραιωμένα δείγματα").

Έλεγχος ποιότητας

Θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί το υλικό ελέγχου HE4 1 και 2 για την επικύρωση κάθε σειράς δοκιμών. Οι περιοχές των αναμενόμενων αποτελεσμάτων αναγράφονται στις ετικέτες των φιαλιδίων. Τα αποτελέσματα δοκιμής HE4 θα πρέπει να θεωρούνται έγκυρα αν:

- Οι μέσες τιμές των επαναλήψεων υλικών ελέγχου βρίσκονται εντός των καθορισμένων περιοχών.
- Οι επαναλήψεις των βαθμονομητών B-F και των υλικών ελέγχου δεν υπερβαίνουν το συντελεστή μεταβλητότητας (CV) του 15%.
- Οι επαναλήψεις του βαθμονομητή A (μηδέν) δεν διαφέρουν μεταξύ τους περισσότερο από 0,06 μονάδες OD.

Αν μια δοκιμή δώσει μη έγκυρα αποτελέσματα βαθμονομητή ή υλικών ελέγχου, πρέπει να γίνει πλήρης έλεγχος των αντιδραστηρίων, της ακρίβειας των πιπετών, του πλυστικού πλάκας και της απόδοσης μέτρησης, και η ανάλυση πρέπει να επαναληφθεί. Κάθε εργαστήριο μπορεί επιπρόσθετα να παρασκευάσει τις δικές του ποσότητες ορού σε διαφορετικά επίπεδα, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εσωτερικά υλικά ελέγχου για να διασφαλιστεί η ακρίβεια της δοκιμής.

Υλικό αναφοράς

Καθώς δεν είναι διαθέσιμο κοινό υλικό αναφοράς για το αντιγόνο HE4, οι τιμές βαθμονομητή HE4 EIA αντιστοιχίζονται έναντι ενός συνόλου εσωτερικών προτύπων αναφοράς.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Αν χρησιμοποιείται φασματοφωτόμετρο μικροπλακών με ενσωματωμένο πρόγραμμα υπολογισμού δεδομένων, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο για το φασματοφωτόμετρο και δημιουργήστε ένα πρόγραμμα με τη χρήση της συγκέντρωσης που αναφέρεται στην ετικέτα κάθε βαθμονομητή HE4.

Για τον αυτόματο υπολογισμό των αποτελεσμάτων HE4 συνιστάται να χρησιμοποιήσετε κάποια από τις παρακάτω μεθόδους:

- Μέθοδος τριτοβάθμιας πολυωνυμικής καμπύλης. Ο βαθμονομητής A θα πρέπει να συμπεριληφθεί στην καμπύλη με την τιμή 0 pM.
- Προεκβολή με εκτίμηση σημείου-σε σημείου. Ο βαθμονομητής A θα πρέπει να συμπεριληφθεί στην καμπύλη με την τιμή 0 pM.
- Μέθοδος δευτεροβάθμιας πολυωνυμικής καμπύλης. Ο βαθμονομητής A θα πρέπει να συμπεριληφθεί στην καμπύλη με την τιμή 0 pM.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Δεν πρέπει να χρησιμοποιηθούν οι μέθοδοι εκτίμησης παραμετρικής παλινδρόμησης με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων ή γραμμικής παλινδρόμησης. Για μη αυτόματη εκτίμηση, δημιουργείται μια καμπύλη βαθμονόμησης με τη γραφική αναπαράσταση των τιμών απορρόφησης (A) που λαμβάνονται για κάθε βαθμονομητή HE4 έναντι της αντίστοιχης συγκέντρωσης HE4 (σε pM).

Οι τιμές για τις άγνωστες συγκεντρώσεις HE4 λαμβάνονται από την καμπύλη βαθμονόμησης με τη χρήση της τιμής μέσης απορρόφησης για κάθε δείγμα ασθενούς.

Υπολογισμός των αποτελεσμάτων με αραιωμένα δείγματα

Αν τα δείγματα σε μια αρχική ανάλυση δώσουν επίπεδα HE4 υψηλότερα από 900 pM, πρέπει να αραιωθούν σε αναλογία 1/10 και 1/100 με βαθμονομητή HE4 A για να ληφθεί η ακριβής συγκέντρωση HE4 των δειγμάτων.

- 1/10 αραιώση = 50 μL δείγματος + 450 μL βαθμονομητή HE4 A
- 1/100 αραιώση = 50 μL αραιώσης 1/10 + 450 μL βαθμονομητή HE4 A

Η συγκέντρωση HE4 του μη αραιωμένου δείγματος υπολογίζεται ως εξής:

- Αραίωση 1/10: 10 x μετρημένη τιμή
- Αραίωση 1/100: 100 x μετρημένη τιμή

Αλγόριθμος κινδύνου κακοήθειας των ωοθηκών (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm, ROMA) για την εκτίμηση του κινδύνου επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών σε προεμμηνοπαυσιακές και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που εμφανίζουν πυελική μάζα

Υπολογισμός του δείκτη πρόβλεψης

Ο δείκτης πρόβλεψης (PI) υπολογίζεται ξεχωριστά για προεμμηνοπαυσιακές και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με τη χρήση των εξισώσεων (1) και (2) παρακάτω. Για τον υπολογισμό του PI, οι τιμές δοκιμής που λαμβάνονται από την HE4 EIA σε συνδυασμό με τη δοκιμή ARCHITECT CA125 II ή CanAg CA125 EIA, αντιστοίχως, εισάγονται σε μια κατάλληλη εξίσωση του αλγόριθμου παρακάτω, ανάλογα με την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση της γυναίκας.

(1) Προεμμηνοπαυσιακή γυναίκα

$$\text{Δείκτης πρόβλεψης (PI)} = -12,0 + 2,38 \cdot \text{LN}[\text{HE4}] + 0,0626 \cdot \text{LN}[\text{CA125}]$$

(2) Μετεμμηνοπαυσιακή γυναίκα

$$\text{Δείκτης πρόβλεψης (PI)} = -8,09 + 1,04 \cdot \text{LN}[\text{HE4}] + 0,732 \cdot \text{LN}[\text{CA125}]$$

Υπολογισμός της τιμής ROMA

Για υπολογισμό της τιμής ROMA (δηλ. πιθανότητα πρόβλεψης), εισαγάγετε την υπολογισμένη τιμή για το δείκτη πρόβλεψης στην εξίσωση (3):

$$(3) \text{ Τιμή ROMA (\%)} = \exp(\text{PI}) / [1 + \exp(\text{PI})] \cdot 100$$

Φύλλο πρωτοκόλλου

HE4 EIA

REF **404-10**

Παρασκευάστε τα συστατικά ακριβώς πριν από τη χρήση. Χρησιμοποιήστε τις συνθήκες πλύσης και επίωσης σύμφωνα με τις οδηγίες. **Σημείωση: Η δοκιμή θα πρέπει να διεξαχθεί μόνο σε θερμοκρασίες μεταξύ 20-26°C για την απόκτηση αποτελεσμάτων ακριβείας.**

Βήμα	Φιάλη/πλάκα	Διαδικασία																																				
1. Παρασκευη βαθμονομητών HE	<table border="1"><tr><td>CAL</td><td>HE4</td></tr></table> <p>B, C, D, E, F</p> <table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>HE4</td></tr></table> <p>1, 2</p>	CAL	HE4	CONTROL	HE4	Προσθέστε 1 mL απεσταγμένου ή αποιονισμένου νερού σε κάθε φιαλίδιο και αναμίξτε με απαλές κινήσεις. Αφήστε το να ηρεμήσει για τουλάχιστον 15 λεπτά. ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Η ακριβής συγκέντρωση για κάθε βαθμονομητή αναφέρεται στην επικέτα. Σταθερότητα ανασυσταθέντος: 4 εβδομάδες σε 2-8°C.																																
CAL	HE4																																					
CONTROL	HE4																																					
Παρασκευη υλικών ελέγχου HE4	<table border="1"><tr><td>WASHBUF</td><td>25X</td></tr></table>	WASHBUF	25X	Αραιώστε 50 mL συμπυκνώματος πλύσης με 1200 mL απεσταγμένου ή αποιονισμένου νερού.																																		
WASHBUF	25X																																					
Παρασκευη διαλύματος πλύσης	<table border="1"><tr><td>CONJ</td><td>Anti-HE4</td></tr></table>	CONJ	Anti-HE4	Αναμίξτε 50 μ L ιχνηθέτη, HRP anti-HE4 με 1mL αραιωτικού ιχνηθέτη ανά strip.																																		
CONJ	Anti-HE4																																					
Παρασκευη διαλύματος ιχνηθέτη εργασίας	<table border="1"><tr><td>DIL</td><td>CONJ</td></tr></table>	DIL	CONJ																																			
DIL	CONJ																																					
		<table border="1"><thead><tr><th>Αρ. strip</th><th>Ιχνηθέτης, HRP anti-EA4 (μL)</th><th>Αραιωτικό ιχνηθέτη (mL)</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>50</td><td>1</td></tr><tr><td>2</td><td>100</td><td>2</td></tr><tr><td>3</td><td>150</td><td>3</td></tr><tr><td>4</td><td>200</td><td>4</td></tr><tr><td>5</td><td>250</td><td>5</td></tr><tr><td>6</td><td>300</td><td>6</td></tr><tr><td>7</td><td>350</td><td>7</td></tr><tr><td>8</td><td>400</td><td>8</td></tr><tr><td>9</td><td>450</td><td>9</td></tr><tr><td>10</td><td>500</td><td>10</td></tr><tr><td>11</td><td>550</td><td>11</td></tr></tbody></table>	Αρ. strip	Ιχνηθέτης, HRP anti-EA4 (μ L)	Αραιωτικό ιχνηθέτη (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
Αρ. strip	Ιχνηθέτης, HRP anti-EA4 (μ L)	Αραιωτικό ιχνηθέτη (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
2. Πλύση	MICROPLA	Πλύντε κάθε βοθρίο μία φορά με διάλυμα πλύσης. Χρησιμοποιήστε μη αυτόματο ή αυτόματο πλυστικό.	
3. Προσθήκη βεθμονομιπών, υλικών ελέγχου και δείγμάτων	CAL HE4 A, B, C, D, E, F CONTROL HE4 1, 2	25 pL σε κάθε βοθρίο	
4. Προσθήκη anti-EA4 βιοτίνης	BIOTIN Anti-HE4	100 μL σε κάθε βοθρίο	
5. Επίπωση	MICROPLA	1 ώρα ανάδευση σε θερμοκρασία 20-25°C	
6. Πλύση	MICROPLA	Πλύντε κάθε βοθρίο τρεις φορές με διάλυμα πλύσης. Χρησιμοποιήστε μη αυτόματο ή αυτόματο πλυστικό.	
7. Προσθήκη διαλύματος ιχνηθέτη φργασίας	ΔΙΑΛΥΜΑ ΙΧΝΗΘΕΤΗ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	100 μL σε κάθε βοθρίο	
8. Επίπωση	MICROPLA	1 ώρα ανάδευση σε θερμοκρασία 20-25°C	
9. Πλύση	MICROPLA	Πλύντε κάθε βοθρίο έξι φορές με διάλυμα πλύσης. Χρησιμοποιήστε μη αυτόματο ή αυτόματο πλυστικό.	
10. Προσθήκη TMB υποστρώματος HRP	SUBS TMB	100 μL σε κάθε βοθρίο	
11. Επίπωση	MICROPLA	30 λεπτά ανάδευση σε θερμοκρασία 20-25°C	
12. Μέτρηση απορρόφησης	MICROPLA	620 nm	
Alt. 12 Προσθήκη διαλύματος τερματισμού	STOP	100 μL σε κάθε βοθρίο	
Alt. 13 Ανάμειξη	MICROPLA	Ανάμειξη σε θερμοκρασία 20-25°C	
Alt. 14 Μέτρηση απορρόφησης	MICROPLA	Μέτρηση σε μήκος κύματος 405 nm εντός 15 λεπτών	

Τα παραδείγματα παρακάτω μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την επικύρωση των υπολογισμών του PI και της τιμής ROMA:

Εμμηνοπαυσιακή κατάσταση	HE4 (pM)	CA125 (U/mL)	Υπολογισμός PI	PI	ROMA (%)
Προ-εμμηνοπαυσιακή	37,5	74,9	$-12,0+(2,38*3,624)+(0,0626*4,316)$	-3,10388	4,29
Προ-εμμηνοπαυσιακή	386,6	21,8	$-12,0+(2,38*5,957)+(0,0626*3,082)$	2,371517	91,5
Μετεμμηνοπαυσιακή	66,7	11,3	$-8,09+(1,04*4,200)+(0,732*2,425)$	-1,94683	12,5
Μετεμμηνοπαυσιακή	383.1	22.7	$-8.09+(1.04*5.948)+(0.732*3.122)$	0.381799	59.4

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Οι ασθενείς με επιβεβαιωμένο καρκίνο των ωοθηκών μπορεί να έχουν τιμές για τη δοκιμή HE4 εντός της ίδιας περιοχής με υγιείς γυναίκες. Ορισμένοι ιστολογικοί τύποι καρκίνου των ωοθηκών, π.χ. βλεννώδεις όγκοι ή όγκοι βλαστικών κυττάρων, σπάνια εκφράζουν HE4, συνεπώς η HE4 δεν συνιστάται για την παρακολούθηση των ασθενών με γνωστό βλεννώδη καρκίνο ή καρκίνο βλαστικών κυττάρων των ωοθηκών (7). Ομοίως, αυξημένα επίπεδα του αντιγόνου HE4 μπορεί να εμφανίζονται σε άτομα με μη κακοήθη νόσο. Συνεπώς, το επίπεδο της HE4 δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως απόλυτη ένδειξη της παρουσίας ή απουσίας κακοήθους νοσήματος και η εξέταση HE4 δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται στον έλεγχο για καρκίνο. Τα αποτελέσματα της εξέτασης θα πρέπει να ερμηνευθούν μόνο σε συνδυασμό με άλλες διερευνήσεις και διαδικασίες για τη διάγνωση της νόσου και τη διαχείριση των ασθενών, και η εξέταση HE4 δεν θα πρέπει να αντικαταστήσει την καθιερωμένη κλινική εξέταση.

Ο αλγόριθμος κινδύνου κακοήθειας ωοθηκών δεν έχει επικυρωθεί για τις παρακάτω ομάδες ασθενών: ασθενείς που είχαν λάβει προηγουμένως θεραπεία για κακοήθεια, ασθενείς που λαμβάνουν χημειοθεραπεία και ασθενείς ηλικίας < 18 ετών. Η μορφή της μαθηματικής συνάρτησης που αναφέρεται ως αλγόριθμος κινδύνου κακοήθειας ωοθηκών (ROMA), εξαρτάται από την προεμμηνοπαυσιακή ή μετεμμηνοπαυσιακή κατάσταση μιας γυναίκας. Η προεμμηνοπαυσιακή ή μετεμμηνοπαυσιακή κατάσταση πρέπει να βασίζεται σε λειτουργία των ωοθηκών που προσδιορίζεται με πληροφορίες που είναι διαθέσιμες από κλινική αξιολόγηση και ιατρικό ιστορικό.

Η τιμή ROMA δεν περιλαμβάνει την ηλικία, το οικογενειακό ιστορικό, τα κλινικά ευρήματα ή τα αποτελέσματα απεικόνισης και πρέπει να ερμηνεύεται σε συνδυασμό με αυτές τις παραμέτρους. Η αποτυχία της HE4 EIA ή/και της δοκιμής CA125 να αποδώσει όπως υποδεικνύεται ή σφάλμα στον υπολογισμό των αποτελεσμάτων, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα ανακριβή αξιολόγηση του κινδύνου και ακατάλληλη διαχείριση του ασθενούς. Ειδικότερα, ένα ψευδώς χαμηλό αποτέλεσμα των αναλύσεων μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα προσδιορισμό ότι η ασθενής διατρέχει μικρότερο κίνδυνο για επιθηλιακό καρκίνο των ωοθηκών, και έτσι μπορεί να λάβει λιγότερο εξειδικευμένο επίπεδο φροντίδας. Η χρήση των αποτελεσμάτων της δοκιμής χωρίς να ληφθούν υπόψη άλλα εργαστηριακά ευρήματα, μελέτες απεικόνισης και η κλινική αξιολόγηση μπορεί να είναι επικίνδυνη. Τα αντι-αντιδραστικά αντισώματα (ανθρώπινα αντισώματα έναντι των πρωτεϊνών από ποντίκι (HAMA) ή ετεροφιλικά αντισώματα) στο δείγμα ασθενούς μπορεί περιστασιακά να παρέμβουν στη δοκιμή, ακόμα και αν έχουν συμπεριληφθεί συγκεκριμένοι ανασταλτικοί παράγοντες στα ρυθμιστικά διαλύματα. **Η δοκιμή πρέπει να γίνει σε περιβάλλον ελεγχόμενης θερμοκρασίας, καθώς η επώαση σε θερμοκρασίες πάνω από τη συνιστώμενη περιοχή των 20 - 25°C μπορεί να δώσει εσφαλμένα χαμηλά αποτελέσματα.**

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Η διανομή των επιπέδων HE4 που καθορίστηκαν σε 1147 δείγματα εμφανίζονται στον πίνακα παρακάτω:

Διανομή τιμών δοκιμής HE4

Αριθμός γυναικών	0 - 150 pM	150,1 - 300	300,1 - pM	> 500 pM
---------------------	---------------	----------------	---------------	-------------

ΕΜΦΑΝΩΣ ΥΓΙΕΙΣ

Γυναίκες (προεμμηνοπαυσιακές)	76	72	3	0	1
Γυναίκες (μετεμμηνοπαυσιακές)	103	97	5	0	1

ΚΑΛΟΗΘΕΙΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ

Εγκυμοσύνη	22	21	1	0	0
Καλοήθης γυναικολογικός Νόσος	347	324	18	1	4
Άλλη καλοήθης νόσος	108	82	8	7	11
Υπέρταση/Απόφραξη Καρδιακή ανεπάρκεια	96	75	16	2	3

ΚΑΡΚΙΝΟΣ

Καρκίνος των ωθηκών	127	27	18	21	61
Καρκίνος του μαστού	46	40	4	2	0
Καρκίνος των πνευμόνων	50	29	15	6	0
Ενδομήτριος καρκίνος	116	86	15	4	11
Καρκίνος γαστρεντερικού	56	47	8	0	1

Σε αυτή τη μελέτη, το 94,4% των υγιών γυναικών παρουσίασε τιμή δοκιμής HE4 ίση ή μικρότερη από 150 pM. Συνιστάται κάθε εργαστήριο να καθιερώσει τη δική του τιμή αναφοράς για τον εν λόγω πληθυσμό.

Παρακολούθηση της κατάστασης νόσου σε ασθενείς που διαγιγνώσκονται με καρκίνο των ωθηκών

Η αποτελεσματικότητα της HE4 EIA ως βοηθήματος για την παρακολούθηση της κατάστασης της νόσου σε ασθενείς που πάσχουν από καρκίνο των ωθηκών προσδιορίστηκε με την αξιολόγηση των αλλαγών στα επίπεδα HE4 σε σειριακά δείγματα ορού από 80 ασθενείς σε σύγκριση με αλλαγές στην κατάσταση νόσου. Διεξήχθη μελέτη με συνολικά 354 ζεύγη παρατηρήσεων, με μέσο αριθμό παρατηρήσεων 4,4 ανά ασθενή. Μια θετική αλλαγή στην HE4 ορίστηκε ως αύξηση στην τιμή που ήταν τουλάχιστον 25% μεγαλύτερη από την προηγούμενη τιμή της εξέτασης. Αυτό το επίπεδο αλλαγής λαμβάνει υπόψη τη μεταβλητότητα της δοκιμής και τη βιολογική μεταβλητότητα. Το 60% ή 76/126 των δειγμάτων ασθενών με θετική αλλαγή συσχετίστηκε με την εξέλιξη της νόσου ενώ το 75% ή 171/228 των σειριακών δειγμάτων ασθενών με μη σημαντική αλλαγή στην τιμή της HE4 συσχετίστηκε με απουσία εξέλιξης. Η συνολική συμφωνία ήταν 70% ή 247/354. Ο παρακάτω πίνακας παρουσιάζει τα δεδομένα σε μορφή 2 x 2.

Αλλαγή κατάστασης νόσου ανά διαδοχικό ζεύγος

Αύξηση στη συγκέντρωση HE-4	Εξέλιξη	Απουσία εξέλιξης	Σύνολο
>25%	76	57	133
≤ 25%	50	171	221
Σύνολο	126	228	354

Ο παρακάτω πίνακας παρουσιάζει τη διανομή ανά ασθενή. Το 93% ή 54/58 των σετ ορού ανά ασθενή με θετική αλλαγή συσχετίστηκε με την εξέλιξη της νόσου ενώ το 32% ή 7/22 των σετ ορού με μη σημαντική αλλαγή στην τιμή της HE4 συσχετίστηκε με απουσία εξέλιξης. Η συνολική συμφωνία σε αυτή τη μελέτη ήταν 76 % ή 61/80.

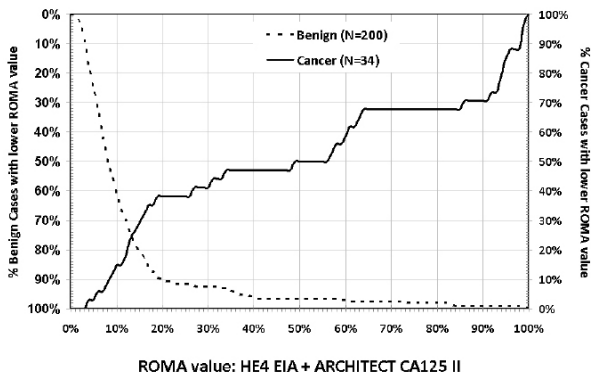
Αλλαγή κατάστασης νόσου ανά ασθενή

Αύξηση στη συγκέντρωση HE-4	Εξέλιξη	Απουσία εξέλιξης	Σύνολο
>25%	54	15	69
≤ 25%	4	7	11
Σύνολο	58	22	80

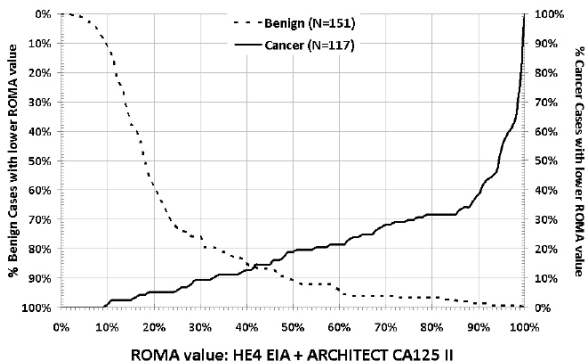
Εκτίμηση κινδύνου σε ασθενείς που εμφανίζουν πτυελική μάζα

Η αποτελεσματικότητα της HE4 EIA σε συνδυασμό με CA125 που προσδιορίστηκε με δοκιμή ARCHITECT CA125 II ή CanAg CA125 EIA για εκτίμηση του κινδύνου για επιθηλιακό καρκίνο των ωοθηκών σε ασθενείς που εμφανίζουν πτυελική μάζα, προσδιορίστηκε σε μια πολυκεντρική, διπλά τυφλή κλινική δοκιμή προοπτικής. Αναπτύχθηκε ένας αλγόριθμος (ROMA, βλ. σελίδα 17) για την εκτίμηση του κινδύνου επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών. Ο αλγόριθμος λαμβάνει υπόψη τις τιμές HE4 και CA125, καθώς επίσης την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση της ασθενούς. Ο αλγόριθμος υπολογίζει μια πιθανότητα πρόβλεψης για την εύρεση επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών σε χειρουργική επέμβαση. Στη μελέτη προοπτικής, συμπεριλήφθηκαν συνολικά 502 ασθενείς και καθορίστηκε η πιθανότητα πρόβλεψης για καρκίνο των ωοθηκών, καθώς επίσης η δυνατότητα για διαχωρισμό σε ομάδες χαμηλού και υψηλού κινδύνου με βάση τις τιμές ROMA. Η συγκεντρωτική συχνότητα διανομής των τιμών ROMA για καλοήγη περιστατικά και περιστατικά καρκίνου των ωοθηκών, συμπεριλαμβανομένων όγκων χαμηλού καλοήθους βιολογικού δυναμικού (LMP) αντιστοίχως με τη χρήση του αλγόριθμου εμφανίζεται στις Εικόνες 1 και 2 για το συνδυασμό δοκιμών HE4 EIA και ARCHITECT CA125 II και στις Εικόνες 3 και 4 για το συνδυασμό δοκιμών HE4 EIA και CanAg CA125 EIA. Οι γραφικές παραστάσεις διανομής συχνότητας απεικονίζουν τη διανομή των ασθενών με καλοήγη νόσο και επιθηλιακό καρκίνο των ωοθηκών (συμπεριλαμβανομένου LMP) σε διαφορετικά σημεία αναστροφής τιμών ROMA.

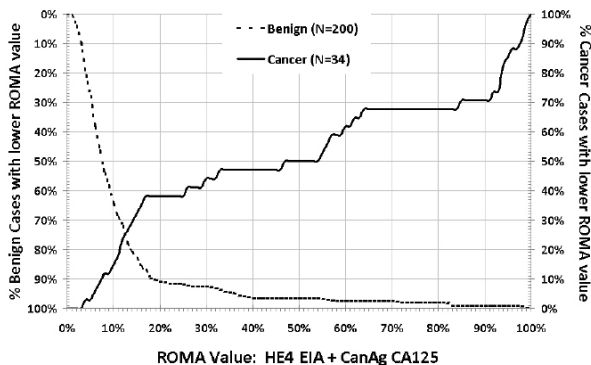
Εικόνα 1 Συγκεντρωτική διανομή συχνότητας των τιμών ROMA για προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Συνδυασμός δοκιμών HE4 EIA + ARCHITECT CA125 II



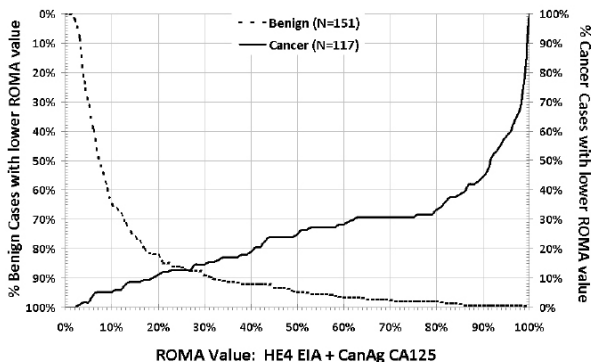
Εικόνα 2 Συγκεντρωτική διανομή συχνότητας των τιμών ROMA για μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Συνδυασμός δοκιμών HE4 EIA + ARCHITECT CA125 II



Εικόνα 3 Συγκεντρωτική διανομή συχνότητας των τιμών ROMA για προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Συνδυασμός δοκιμών HE4 EIA + CanAg CA125 EIA



Εικόνα 4 Συγκεντρωτική διανομή συχνότητας των τιμών ROMA για μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Συνδυασμός δοκιμών HE4 EIA + CanAg CA125 EIA



Στρωματοποίηση σε ομάδες χαμηλού και υψηλού κινδύνου

Ο αλγόριθμος κινδύνου κακοήθειας των ωοθηκών χρησιμοποιήθηκε για τη στρωματοποίηση των γυναικών σε ομάδες κινδύνου για την εύρεση επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών. Χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα σημεία αναστροφής για την παροχή επιπέδου ειδικότητας 75% για το συνδυασμό δοκιμών HE4 EIA και ARCHITECT CA125 II:

Προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες

Τιμή ROMA $\geq 13,1\%$ = Υψηλός κίνδυνος εύρεσης επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών

Τιμή ROMA $< 13,1\%$ = Χαμηλός κίνδυνος εύρεσης επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών

Μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες

Τιμή ROMA $\geq 27,7\%$ = Υψηλός κίνδυνος εύρεσης επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών

Τιμή ROMA $< 27,7\%$ = Χαμηλός κίνδυνος εύρεσης επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών

Η στρωματοποίηση σε ομάδα υψηλού κινδύνου για παρουσία επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών για όλες τις ασθενείς με εξαρτηματικό όγκο χρησιμοποιώντας τις τιμές ROMA σε επίπεδο ειδικότητας 75% παρατίθεται στον Πίνακα 1, συμπεριλαμβανομένης της στρωματοποίησης κινδύνου που λαμβάνεται για τις ξεχωριστές ομάδες προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών ασθενών αντιστοίχως. Η ευαισθησία για στρωματοποίηση των ασθενών με επιθηλιακό καρκίνο των ωοθηκών σε στάδιο I-IV στην ομάδα υψηλού κινδύνου ήταν 94% και η ειδικότητα ήταν 75%, με αποτέλεσμα το 75% των γυναικών με καλοήγη πνευλική μάζα να καταταχθεί στην ομάδα χαμηλού κινδύνου. Οι θετικές και αρνητικές τιμές πρόβλεψης ήταν 58% και 97% αντιστοίχως.

Πίνακας 1: Στρωματοποίηση στην ομάδα υψηλού κινδύνου εμφάνισης επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών (EOC) ασθενών με εξαρτηματικό όγκο με τη χρήση του συνδυασμού δοκιμών HE4 EIA και ARCHITECT CA125 II για τον υπολογισμό της τιμής ROMA.

Προεμμηνοπαυσιακό σημείο αναστροφής για στρωματοποίηση σε ομάδα υψηλού κινδύνου για επίπεδο ειδικότητας 75% $\geq 13,1\%$.

Μετεμμηνοπαυσιακό σημείο αναστροφής για στρωματοποίηση σε ομάδα υψηλού κινδύνου για επίπεδο ειδικότητας 75% $\geq 27,7\%$.

	Προεμμηνοπαισιακές γυναίκες n = 234	Μετεμμηνοπαισιακές γυναίκες n = 268	Συνδυασμός προεμμηνο- παισιακών και μετεμμη- νοπαισιακών γυναικών n = 502
Στάδιο I – IV, συνδυασμός EOC & LMP	26/34 (76%)	108/117 (92%)	134/151 (89%)
Χαμηλό δυναμικό κακοήθειας	10/16 (63%)	3/6 (50%)	13/22 (59%)
EOC σε Στάδιο I-II	6/7 (86%)	24/28 (86%)	30/35 (86%)
EOCΣτάδιο I – III^a	7/8 (88%)	35/39 (90%)	42/47 (89%)
EOC σε Στάδιο I – IV	16/18 (89%)	105/111 (95%)	121/129 (94%)

^aΕπιθηλιακός καρκίνος των ωθηκών σε Στάδιο I – IIIb & Στάδιο IIIc (αρνητικό επιπλόο, θετικός λεμφαδένας)

Δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ευαισθησία και την ειδικότητα της τιμής ROMA με τη χρήση τιμών ARCHITECT CA125 II ή CanAg CA125 EIA για διαφοροποίηση μεταξύ καλοηθών νοσημάτων και επιθηλιακού καρκίνου των ωθηκών. Με τη χρήση του συνδυασμού δοκιμών CanAg CA125 EIA + HE4 EIA, η ευαισθησία για τη στρωματοποίηση ασθενών με επιθηλιακό καρκίνο των ωθηκών σταδίου I-IV στην ομάδα υψηλού κινδύνου ήταν 93%. Οι θετικές και αρνητικές τιμές πρόβλεψης ήταν 57% και 97% αντιστοίχως. **Θα πρέπει να σημειωθεί ότι πρέπει να επιλεχθούν διαφορετικά σημεία αναστροφής για στρωματοποίηση κινδύνου σε ομάδες υψηλού και χαμηλού κινδύνου ανάλογα με το ποια δοκιμή χρησιμοποιείται CA125.**

Χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα σημεία αναστροφής για την παροχή επιπέδου ειδικότητας 75% για το συνδυασμό δοκιμών CanAg CA125 EIA + HE4 EIA:

Προεμμηνοπαισιακές γυναίκες

Τιμή ROMA \geq 12,5% = Υψηλός κίνδυνος εύρεσης επιθηλιακού καρκίνου των ωθηκών

Τιμή ROMA < 12,5% = Χαμηλός κίνδυνος εύρεσης επιθηλιακού καρκίνου των ωθηκών

Μετεμμηνοπαισιακές γυναίκες

Τιμή ROMA \geq 14,4% = Υψηλός κίνδυνος εύρεσης επιθηλιακού καρκίνου των ωθηκών

Τιμή ROMA < 14,4% = Χαμηλός κίνδυνος εύρεσης επιθηλιακού καρκίνου των ωθηκών

Τα ποσοστά ψευδών αρνητικών και το ποσοστό επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών που στρωματοποιήθηκαν σε χαμηλό κίνδυνο εμφάνισης επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών σε ασθενείς με εξαρτηματικό όγκο χρησιμοποιώντας την τιμή ROMA σε επίπεδο ειδικότητας 75% παρατίθενται στον Πίνακα 2. Η στρωματοποίηση σε ομάδα χαμηλού και υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση επιθηλιακού καρκίνου των ωοθηκών με τη χρήση του αλγόριθμου ROMA σε επίπεδο ειδικότητας 75 % είχε ως αποτέλεσμα ολικό ποσοστό ψευδών αρνητικών 6,2%. Το 3% όλων των περιστατικών που στρωματοποιήθηκαν στην ομάδα χαμηλού κινδύνου αντιπροσώπευαν επιθηλιακό καρκίνο των ωοθηκών.

Πίνακας 2: Ποσοστό ψευδών αρνητικών (FNR) και ποσοστό επιθηλιακών καρκίνων των ωοθηκών για όλα τα περιστατικά που στρωματοποιήθηκαν σε ομάδα χαμηλού κινδύνου σε ασθενείς που παρουσιάζουν εξαρτηματικό όγκο χρησιμοποιώντας την τιμή ROMA.

Προεμμηνοπαισιακό σημείο αναστροφής για στρωματοποίηση σε ομάδα χαμηλού κινδύνου σε επίπεδο ειδικότητας 75% < 13,1%, μετεμμηνοπαισιακό σημείο αναστροφής για στρωματοποίηση σε ομάδα χαμηλού κινδύνου σε επίπεδο σχετικότητας 75% < 27,7%.

Επιθηλιακός καρκίνος των ωοθηκών ^α	Ποσοστό ψευδών αρνητικών (FNR)			Ποσοστό καρκίνων σε ομάδα χαμηλού κινδύνου		
	Ψευδείς Αρνητικοί Καρκίνοι	Συνολικοί Καρκίνοι	FNR ^β	Ψευδείς Αρνητικοί Καρκίνοι	Αληθείς Θετικοί Καλοήθεις	(%)
Προεμμηνοπαισιακές	2	18	11,1%	2	149	1,3%
Μετεμμηνοπαισιακές	6	111	5,4%	6	113	5,0%
Όλες οι ασθενείς	8	129	6,2%	8	262	3,0%

^α Δεν συμπεριλαμβάνονται όγκοι χαμηλού κακοήθους βιολογικού δυναμικού (LMP). ^β FNR = Ψευδές αρνητικό/(Αληθές θετικό + Ψευδές αρνητικό). ^γ Ψευδές αρνητικό/(Αληθές αρνητικό + Ψευδές αρνητικό)

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Ακρίβεια

Η ακρίβεια της δοκιμής HE4 είναι συνολικού συντελεστή μεταβλητότητας ≤ 15%. Διεξήχθη μελέτη σύμφωνα με τις προδιαγραφές της κατευθυντήριας οδηγίας EP5-A2 (22) NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Αναλύθηκε ένα πάνελ τεσσάρων δειγμάτων ορού, με τη χρήση δύο παρτίδων αντιδραστηρίων, σε επαναλήψεις των δύο, δύο ξεχωριστές φορές την ημέρα, για 20 ημέρες. Τα δεδομένα από αυτή τη μελέτη συνοψίζονται παρακάτω.*

Δείγμα	Παρτίδα αντιδραστηρίου	n	Μέση συγκέντρωση (pM)	Τυπική απόκλιση SD στον ίδιο αναλυτικό κύκλο (pM)	Συντελεστής μεταβλητότητας στον ίδιο αναλυτικό κύκλο CV%	Ολική τυπική απόκλιση SD (pM)	Συνολικός συντελεστής μεταβλητότητας CV%
1	1	80	50,3	0,81	1,6	2,34	4,7
	2	80	48,0	0,69	1,4	2,17	4,5
2	1	80	75,3	1,81	2,4	2,96	3,9
	2	80	72,4	1,73	2,4	4,70	6,5
3	1	80	255	5,68	2,2	12,0	4,7
	2	80	242	5,21	2,2	12,8	5,3
4	1	80	407	6,22	1,5	14,5	3,6
	2	80	385	8,71	2,3	21,6	5,6

*Αντιπροσωπευτικά δεδομένα, τα αποτελέσματα σε ανεξάρτητα εργαστήρια μπορεί να διαφέρουν από αυτά τα δεδομένα.

Όριο ανίχνευσης

Το όριο της ανίχνευσης της δοκιμής HE4 EIA είναι ≤ 15 pM. Το όριο ανίχνευσης (LoD) αντιστοιχεί στο ανώτερο όριο του διαστήματος εμπιστοσύνης 95% και αντιπροσωπεύει τη χαμηλότερη συγκέντρωση αντιγόνου HE4 που μπορεί να ξεχωρίσει από το μηδέν. Η κατευθυντήρια οδηγία EP17-A (23) του NCCLS χρησιμοποιήθηκε για το σχεδιασμό των πειραμάτων LoD. Διεξήχθη μελέτη στο πλαίσιο της οποίας βαθμονομήτες HE4 A (μηδέν) και 4 δείγματα από υγιή άτομα που αραιώθηκαν σε 5 pM με αραιωτικό δειγμάτων, εξετάστηκαν σε επαναλήψεις των 24 ανά αναλυτικό κύκλο, σε 4 αναλυτικούς κύκλους, σε δύο ξεχωριστές ημέρες. Το LoD υπολογίστηκε ως εξής:

$$\text{LoD (pM)} = 5,0 \text{ pM} \times (1,65 \times \text{SD}_0 + 1,65 \times \text{SD}_5) / (\text{OD}_5 - \text{OD}_0)$$

Το όριο ανίχνευσης του kit HE4 EIA υπολογίστηκε σε $< 2,5$ pM.

Λειτουργική ευαισθησία

Η λειτουργική ευαισθησία της δοκιμής HE4 EIA είναι ≤ 25 pM. Η λειτουργική ευαισθησία εκφράζεται ως η συγκέντρωση ενός αναλύτη στην οποία ο συντελεστής μεταβλητότητας είναι 20%. Η κατευθυντήρια οδηγία EP5-A2 (22) του NCCLS χρησιμοποιήθηκε για το σχεδιασμό των πειραμάτων για τον καθορισμό της λειτουργικής ευαισθησίας. Διεξήχθη μια μελέτη, όπου ένα πάνελ ευαισθησίας πέντε μελών εξετάστηκε σε επαναλήψεις των 4, σε 2 αναλυτικούς κύκλους, σε 20 ξεχωριστές ημέρες, με δύο παρτίδες αντιδραστηρίων. Η λειτουργική ευαισθησία που καθορίστηκε για την HE4 EIA βρέθηκε ότι είναι < 5 pM.

Ανάκτηση

Η μέση ανάκτηση της δοκιμής HE4 EIA είναι $100 \pm 15\%$. Διεξήχθη μια μελέτη όπου οι αραιώσεις ενός δείγματος ασθενούς με γνωστές συγκεντρώσεις HE4 προστέθηκαν σε δείγματα φυσιολογικού ανθρώπινου ορού. Η συγκέντρωση της HE4 καθορίστηκε με τη χρήση της δοκιμής HE4 EIA και υπολογίστηκε το ποσοστό ανάκτησης που προκύπτει. Τα αντιπροσωπευτικά δεδομένα από αυτή τη μελέτη συνοψίζονται στον πίνακα παρακάτω*.

Δείγμα	Ενδογενής τιμή δοκιμής (pM)	Προσθήκη αντιγόνου HE4 (pM)	Παρατηρούμενη τιμή δοκιμής HE4 (pM)	Ποσοστιαία ανάκτηση** %
1	44,6	15	60,6	102
		75	96,0	89
		350	397	96
		650	686	96
2	41,1	15	55,7	99
		75	95,2	91
		350	400	98
		650	657	93
3	40,6	15	54,0	97
		75	95,1	91
		350	403	99
		650	680	96
4	46,6	15	63,3	103
		75	106	97
		350	410	99
		650	645	90
5	40,2	15	56,5	102
		75	102	98
		350	402	99
		650	676	96

Η μέση ανάκτηση μεταξύ των τεσσάρων εμπλουτισμένων συγκεντρώσεων που εμφανίζονται παραπάνω βρέθηκε ότι είναι 97%.

*Αντιπροσωπευτικά δεδομένα, τα αποτελέσματα σε ανεξάρτητα εργαστήρια μπορεί να διαφέρουν από αυτά τα δεδομένα.

**Ποσοστιαία ανάκτηση=Παρατηρούμενη συγκέντρωση HE4 (pM)/Ενδογενής συγκέντρωση HE4 (pM) + Προσθήκη HE4 (pM)

Άγκιστρο υψηλής δόσης

Το άγκιστρο μεγάλης δόσης είναι ένα φαινόμενο στο οποίο εξαιρετικά υψηλό επίπεδο δειγμάτων μπορεί να μετρηθεί εντός του δυναμικού εύρους της δοκιμής. Για την HE4 EIA, δεν παρατηρήθηκε φαινόμενο άγκιστρο υψηλής δόσης για δείγματα που περιέχουν εγγενές αντιγόνο HE4 μέχρι 300.000 pM.

Γραμμικότητα αραιώσης

Η μέση γραμμικότητα αραιώσης της δοκιμής HE4 EIA είναι $100 \pm 15\%$. Διεξήχθη μια μελέτη για την HE4 EIA που μοντελοποιήθηκε με βάση την κατευθυντήρια οδηγία EP6-A (24) του NCCLS (CLSI). Τα δείγματα ορού με αυξημένες τιμές HE4 αραιώθηκαν με βαθμονομητή HE4 A (μηδέν). Η συγκέντρωση HE4

προσδιορίστηκε για κάθε αραιώση και υπολογίστηκε η ποσοστιαία (%) ανάκτηση. Τα αντιπροσωπευτικά δεδομένα από αυτή τη μελέτη συνοψίζονται στον πίνακα παρακάτω*.

Δείγμα	Τελικός συντελεστής αραιώσης	Λήψη τιμής (pM)	Αναμενόμενη τιμή (pM)	Ποσοστιαία ανάκτηση** (%)
1	Μη αραιωμένο	889,6	889,6	100
	1:1,25	720,0	711,7	101
	1:1,7	543,1	533,8	101
	1:2	450,6	444,8	101
	1:2,5	345,9	355,8	97,2
	1:5	183,6	177,9	103
	1:10	97,6	89,0	109
	1:20	49,1	44,5	110
	1:40	25,9	22,2	116
	2	Μη αραιωμένο	697,0	697,0
1:1,25		544,9	557,6	97,7
1:1,7		429,8	418,2	103
1:2		361,1	348,5	104
1:2,5		275,9	278,8	99,0
1:5		134,5	139,4	96,5
1:10		74,4	69,7	107
1:20		39,1	34,9	112
1:40		21,0	17,4	120
3		Μη αραιωμένο	680,2	680,2
	1:1,25	499,7	544,2	91,8
	1:1,7	354,4	408,1	86,8
	1:2	296,7	340,1	87,2
	1:2,5	247,2	272,1	90,9
	1:5	124,9	136,0	91,8
	1:10	61,7	68,0	90,7
	1:20	34,6	34,0	102
1:40	18,4	17,0	109	

Η μέση ανάκτηση μεταξύ των τριών αραιωμένων δειγμάτων που εμφανίζονται παραπάνω = 101%

*Αντιπροσωπευτικά δεδομένα, τα αποτελέσματα σε ανεξάρτητα εργαστήρια μπορεί να διαφέρουν

από αυτά τα δεδομένα.

**Ποσοστιαία ανάκτηση= Ληφθείσα συγκέντρωση HE4 x Συντελεστής αραίωσης / Μη αραιωμένη συγκέντρωση HE4.

Αναλυτική ειδικότητα

Η μέση ειδικότητα της δοκιμής HE4 EIA είναι $100 \pm 15\%$. Οι μελέτες ανάκτησης πραγματοποιήθηκαν για τη σύγκριση ορών που περιέχουν τα παρακάτω συστατικά στις υποδεικνυόμενες συγκεντρώσεις με ορούς ελέγχου. Η κατευθυντήρια οδηγία EP7-A (25) του NCCLS χρησιμοποιήθηκε για το σχεδιασμό των πειραμάτων παρέμβασης. Οι παρακάτω ουσίες και συγκεντρώσεις εξετάστηκαν και βρέθηκαν ότι δεν παρεμβαίνουν στην εξέταση.

Ενδογενείς παρεμβάσεις ορού

Συγκέντρωση εξέτασης

Τριγλυκερίδια	30 mg/mL
Χολερυθρίνη	0,2 mg/mL
Αιμοσφαιρίνη	10 mg/mL
Συνολική πρωτεΐνη	120 mg/mL

Παρεμβάσεις από χημειοθεραπευτικό φάρμακο

Συγκέντρωση εξέτασης

Καρμποπλατίνη	500 µg/mL
Σισπλατίνη	165 µg/mL
Κλοτριμαζόλη	0,3 µg/mL
Κυκλοφωσφαμίδη	500 µg/mL
Δεξαμεθαζόνη	10 µg/mL
Δοξορουμπικίνη	1,16 µg/mL
Λευκοβορίνη	2,68 µg/mL
Μελφαλάνη	2,8 µg/mL
Μεθοτρεξάτη	45 µg/mL
Πακλιταξέλη	3,5 ng/mL

Κλινικές συνθήκες που μπορεί να παρέμβουν

Η δοκιμή HE4 EIA αξιολογήθηκε με τη χρήση δειγμάτων με HAMA και ρευματοειδή συντελεστή (RF) για περαιτέρω αξιολόγηση της ειδικότητας της δοκιμής. Αξιολογήθηκαν πέντε δείγματα θετικά για HAMA και πέντε δείγματα θετικά για RF για ποσοστιαία ανάκτηση με αντιγόνο HE4 εμπλουτισμένο σε κάθε δείγμα, σε περίπου 50 και 450 pM. Τα μέσα αποτελέσματα ανάκτησης συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα.*

Κλινική συνθήκη	Αριθμός δειγμάτων	Μέση ποσοστιαία ανάκτηση
HAMA	5	101
RF	5	95

*Αντιπροσωπευτικά δεδομένα, τα αποτελέσματα σε ανεξάρτητα εργαστήρια μπορεί να διαφέρουν από αυτά τα δεδομένα.

ΕΓΓΥΗΣΗ

Η λήψη των δεδομένων απόδοσης που παρουσιάζονται εδώ έγινε με τη διαδικασία δοκιμής που αναφέρεται. Οποιαδήποτε αλλαγή ή τροποποίηση της διαδικασίας που δεν συνιστάται από την Fujirebio Diagnostics μπορεί να επηρεάσει τα αποτελέσματα. Σε αυτή την περίπτωση, η Fujirebio Diagnostics αποποιείται όλων των εγγυήσεων, ρητών, σιωπηρών ή θεσμικών, συμπεριλαμβανομένης σιωπηρής εγγύησης εμπορευσιμότητας και καταλληλότητας για χρήση.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Israeli O, Goldring-Avram A, Rienstein S, Ben-Baruch G, Korach J, Goldman B, Friedman E. In silico chromosomal clustering of genes displaying altered expression patterns in ovarian cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 2005;160:35-42.
2. Bouchard D, Morisset D, Bourbonnais Y, Tremblay GM. Proteins with whey-acidic-protein motifs and cancer. *Lancet Oncol* 2006;7:167-174.
3. Bingle L, Singleton V, Bingle CD. The putative ovarian tumour marker gene HE4 (wfdc2), is expressed in normal tissues and undergoes complex alternative splicing to yield multiple protein isoforms. *Oncogene* 2002;21:2768-2773.
4. Kirchhoff C, Habben I, Ivell R, et al. A major human epididymis-specific cDNA encodes a protein with sequence homology to extracellular protease inhibitors. *Biol Reprod* 1991;45:350-357.
5. Kirchhoff C. Molecular characterization of epididymal proteins. *Rev Reprod* 1998;3:86-95.
6. Galgano MT, Hampton GM, Frierson HF Jr. Comprehensive analysis of HE4 expression in normal and malignant human tissues. *Mod Pathol* 2006;19:847-853.
7. Drapkin R, von Horsten HH, Lin Y, Mok SC, Crum CP, Welch WR, Hecht JL. Human epididymis protein 4 (HE4) is a secreted glycoprotein that is overexpressed by serous and endometrioid ovarian carcinomas. *Cancer Res* 2005;65:2162-2169.
8. Hough CD, Sherman-Baust CA, Pizer ES, Montz FJ, Im DD, Rosenshein NB, Cho KR, Riggins GJ, Morin PJ. Large-scale serial analysis of gene expression reveals genes differentially expressed in ovarian cancer. *Cancer Res* 2000;60:6281-6287.
9. Schummer M, Ng WV, Bumgarner RE, Nelson PS, Schummer B, Bednarski DW, Hassell L, Baldwin RL, Karlan BY, Hood L. Comparative hybridization of an array of 21,500 ovarian cDNAs for the discovery of genes overexpressed in ovarian carcinomas. *Gene* 1999;238:375-385.
10. Gilks CB, Vanderhyden BC, et al. Distinction between serous tumors of low malignant potential and serous carcinomas based on global mRNA expression profiling. *Gynecol Oncol* 2005;96:684-694.
11. Hellstrom I, Raycraft J, et al. The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian cancer. *Cancer Res* 2003;63:3695-3700.
12. Moore RM, Brown AK, Miller MC, et al. The use of multiple novel tumor markers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass. *Gynecol Oncol* 2008;108:402-408.

13. Bray F, Loos AH, Tognazzo S, La Vecchia C. Ovarian cancer in Europe: Cross-sectional trends in incidence and mortality in 28 countries, 1953-2000. *Int J Cancer* 2005;113(6):977-90.
14. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement. Ovarian Cancer: Screening, treatment and follow-up. *Gynecol Oncol* 1994;55:S4-14.
15. ACOG Practice Bulletin. Clinical Management Guideline for Obstetrician-Gynecologists. Management of Adnexal Masses. *Obstet Gynecol* 2007;110:201-213.
16. Finkler NJ, Benacerraf B, Lavin PT, Wojciechowski C, Knapp RC. Comparison of serum CA 125, clinical impression and ultrasound in the preoperative evaluation of ovarian masses. *Obstet Gynecol* 1988;72:659-64.
17. Maggino T, Gadducci A, D'Addario V, et al. Prospective Multicenter Study on CA 125 in postmenopausal pelvic masses. *Gynecol Oncol* 1994;54:117-123.
18. Roman LD, Muderspach LI, Stein SM, et al. Pelvic Examination, Tumor marker level, and Gray-Scale and Doppler Sonography in the prediction of pelvic cancer. *Obstet Gynecol* 1997;89:493-500.
19. DePriest PD, Shenson D, Fried A, et al. A morphology index based on sonographic findings in ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1993;51:7-11.
20. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29 CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Blood Borne Pathogens.
21. US Department of Health and Human Services: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories: 4th Edition Washington DC: US Government Printing Office May, 1999.
22. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS/CLSI), Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline – Second Edition. EP5-A2 (2004).
23. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS/CLSI), Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. EP17-A (2004).
24. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS/CLSI), Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. EP6-A.
25. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS/CLSI), Interference Testing in Clinical Chemistry, Approved Guideline, EP7-A.



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

