



CanAg CA125 EIA

REF 400-10

IVD

CE

Kasutusjuhend. 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	SEMNIIFICAȚIA 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/Expíra 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/
Sarzszzám/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/Dátum 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/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



Temperature limitation/Температурни граници/Teplotní omezení/Temperaturbegrænsning/Temperaturbegrenzung/Περιορισμοί θερμοκρασίας/Límites de temperatura/Temperatuuri piirang/Limite de temperatură/Temperaturno ograničenje/Hőmérsékletre vonatkozó korlátozás/Limiti di temperatura/Temperatūriniai apribojimai/Temperatūras ierobežojums/Temperatuurbepierking/Temperaturbegrensninger/Temperaturey graniczne/Limite de temperatura/Limite de temperatură/Температурный режим/Temperaturbegrænsning/Teplotné obmedzenie/Omejitvev 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/Sadrží 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



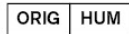
Consult Instructions for Use/
 Прочетете инструкцията за
 употреба/Konzultujte s návodem
 k použití/Se brugsanvisning/Siehe
 Gebrauchsanweisung/Συμβουλευτείτε
 τις Οδηγίες σχετικά με τη χρήση/
 Consulte las instrucciones de uso/
 Vt kasutusjuhendit/Consulter le mode
 d'emploi/Pročitajte upute za uporabu/
 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



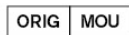
Contents of kit/Съдържание на набора/
 Obsah sady/Kittets indhold/Inhalt des
 Kits/Περιεχόμενα του κιτ/Contenido
 del kit/Komplekt sisaldab/Contenu du
 kit/Sadržaj opreme/A készlet tartalma/
 Contenido del kit/Rinkinio turinys/
 Komplekta saturs/Inhoud van de set/
 Settets innhold/Zawartość zestawu/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



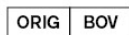
Biological risks/Биологическа
 опасност/Biologická rizika/Biologisk
 fare/Biologische Gefahren/Βιολογικοί
 κίνδυνοι/Riesgos biológicos/
 Bioloogilised ohud/Risques biologiques/
 Biološkli rizici/Biológiai kockázatok/Rischi
 biologici/Biologinis pavojus/Bioloģiskais
 risks/Biologische risico's/Biologiske
 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/Ínsan



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 говежди 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/Разтворит 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

Kasutusjuhend. 2010-07

Immunoensüümtest

96 määramiseks

KASUTUSVALDKOND

CanAg CA125 EIA testkomplekt on mõeldud vähiga seostatava CA125 antigeeni kvantitatiivseks määramiseks seerumist.

ÜLEVAADE TESTIST

CA125 on suure molekulaarkaaluga mutsiin-tüüpi glükoproteiin, mis algselt määrati Oc125 monoklonaalsete antikehade abil (MAb), Bast et al. (1). CA125 antigeeni määramiseks loodud heteroloogse testi loomisel on kasutatud erinevaid OC125 epitoobiga kaasväljenduvaid epitoope (2). CanAg CA125 EIA põhineb kahel monoklonaalsel hiire antikehal, Ov197 ja Ov185, mis on suunatud CA125 antigeeni tuuma kahe erineva epitoobi vastu (3, 4).

CA125 teste kasutatakse sageli halvaloomuliste günekoloogiliste kasvajatega (näiteks epiteliaalne munasarjavähk) patsientide monitooringuks (5).

TESTI PÕHIMÕTE

CanAg CA125 EIA on tahke faasiga, otsesel sandwich-meetodil põhinev mittekompetatiivne immuuntest. Kalibraatorid, kontrollid ja patsiendi proovid inkubeeritakse koos monoklonaalse biotinüülitud anti-CA125 antikehaga

(MAb) Ov197 (saadud hiirelt) streptavidiiniga kaetud mikroribadel. Inkubeerimisel adsorbeerub kalibraatorites või proovides leiduv CA125 biotinüülitud Anti-CA125 MAb vahendusel streptavidiinribadele. Ribad pestakse ja inkubeeritakse HRP-märgistatud Anti-CA125 MAb Ov185 antikehadega. Pärast pesemist lisatakse igasse testsüvendisse puhvriga substraat/kromogeenreaktiivi (vesinikperoksiid ja 3, 3', 5, 5' tetrametüülbensidiin), leiab aset ensüümreaktsioon. Antigeeni leidumisel tekib ensüümreaktsiooni korral sinine värvus. Värvuse intensiivsus on proportsionaalne proovis leiduva CA125 hulgaga. Värvuse intensiivsuse hindamiseks kasutatakse mikroplaadi spektrofotomeetrit lainepikkusel 620 nm (või 405 nm pärast reaktsiooni peatava lahuse lisamist).

Iga testi jaoks luuakse kalibratsioonikõver (absorptsioon vs iga kalibraatori kontsentratsioon), selle kalibratsioonikõvera alusel saadakse patsiendiproovile CA125 kontsentratsioonid.

REAKTIIVID

- Igas CanAg CA125 EIA komplektis on reaktiive 96 testi läbiviimiseks.
- Testkomplekti aegumiskuupäev on trükitud testkomplekti karbi etiketile.
- Ärge kasutage testkomplekti pärast aegumistähtaega.
- Ärge kasutage koos erinevatest partiidest pärit reaktiive.
- Säilitage testkomplekte temperatuuril 2–8°C. Mitte külmutada.
- Avatud reaktiivide säilivad vastavalt alltoodud tabelis toodud andmetele, eeldusel, et reagentid ei ole saastunud, et neid hoitakse originaalanumates ning käsitletakse vastavalt juhistele. Pärast kasutamist viia reaktiivid kohe tagasi temperatuurile 2-8°C.

Testkomplekti osad	säilitamine ja	stabiilsus pärast esimest avamist
--------------------	----------------	-----------------------------------

MICROPLA

Mikroplaat 1 plaat 2 –8°C kuni karbil näidatud aegumiseni

12 x 8 testsüvendit ribadeks jagataval plaadil, mis on kaetud streptavidiiniga. Pärast avamist pange kasutamata ribad kohe tagasi desikandiga alumiiniumpakendisse. Sulgege kott, et ribad oleksid kuivad.

CA125 kalibraatorid 5 viaali 2 –8°C kuni viaalil näidatud aegumiseni

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 antigeen Tris-HCl puhvriga lahuses, mis sisaldab alubmiini (veise seerum), detergenti, inertset kollast värvainet ja säilitusainena 0,05 % naatriumasiidi.

Kasutusvalmis.

CAL	CA125	0
-----	-------	---

 kasutatakse ka proovide lahjendamiseks.

CA125 kontrollid 2 viaali 2 –8°C kuni viaalil näidatud aegumiseni

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

CA125 antigeen Tris-HCl puhvriga lahuses, mis sisaldab alubmiini (veise seerum), detergenti ja säilitusainena 0,05 % naatriumasiidi. Kasutusvalmis.

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

Biotiin anti-CA125 1 x 15 mL 2 –8°C kuni viaalil näidatud aegumiseni

Biotin Anti-CA125 monoklonaalsed hiire antikehad, umbes 2 µg/mL.

Sisaldab Tris-HCl puhverlahust (pH 7.75), albumiini (veise seerum), blokeerivaid ühendeid, detergenti, inertset punast värvainet ja säilitusainena 0,05 % naatriumasiidi. Kasutusvalmis.

CONJ	Anti-CA125
-------------	-------------------

HRP anti-CA125 konjugaat 1 x 0.75 mL 2 –8°C kuni viaalil näidatud aegumiseni

Lahus monoklonaalsete hiire HRP anti-CA125 antikehadega, umbes 30 µg/mL. Sisaldab säilitusaineid. Enne kasutamist lahjendada konjugaadi diluendiga (Tracer Diluent).

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

Konjugaadi diluent 1 x 15 mL 2 –8°C kuni viaalil näidatud aegumiseni

Fosfaatpuhvriga lahus (pH 7.2) sisaldab albumiini (veise seerum), blokeerivaid ühendeid, detergenti, inertset sinist värvainet ja säilitusainena 0,01 % metüülsotiasooloni (MIT). Kasutusvalmis.

Testkomplekti osad	säilitamine ja	stabiilsus pärast esimest avamist
--------------------	----------------	-----------------------------------

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

TMB HRP-substraat	1 x 12 mL	2 –8°C kuni viaalil näidatud aegumiseni
--------------------------	-----------	---

Sisaldab puhverdatud vesinikperoksiidi ja 3, 3', 5, 5' tetrametüülbensidiini (TMB). Kasutusvalmis.

STOP

Reaktsiooni peatamislahus	1 x 15 mL	2 –8°C kuni viaalil näidatud aegumiseni
----------------------------------	-----------	---

Sisaldab 0,12 M soolhapet. Kasutusvalmis.

WASHBUF	25X
----------------	------------

Pesulahuse kontsentraat	1 x 50 mL	2 –8°C kuni pudelil näidatud aegumiseni
--------------------------------	-----------	---

Tris-HCl puhverlahus, sisaldab Tween 20. Sisaldab säilitusainet Germall II. Enne kasutamist teha veega 25-kordne lahjendus.

Ebastabiilsuse näitajad

TMB HRP substraat peab olema värvitu või õrnalt sinakas. Kui reaktiiv on siniseks värvunud, siis on ta saastunud; sellist reaktiivi mitte kasutada.

OHUTUS

Alnult in vitro diagnostikaks

- Laboris kasutatavate ohutusprotseduuride kohta lugege U.S. Department of Health and Human Services (Bethesda, Md., USA) väljaannet nr (CDC) 88–8395 või vastavaid kohalikke ja riiklikke dokumente.
- Kõik patsiendiproovid on potentsiaalselt nakkusohtlikud, ettevaatust käsitsemisel.
- Reagendid sisaldavad säilitusainena naatriumasiidi (NaN₃), vasktorustikuga reageerides võib see tekitada plahvatusohtlikke metalliaside: kui kallate reagente torustikku, laske alati peale suures koguses vett.
- Jääkainete ja –materjalide hävitamisel järgige kõiki kohalikke nõudeid.

Ettevaatust:

Inimpäritolu osistega reaktiivid osutusid testimisel negatiivseks HIV 1 ja 2 antikehade, HCV antikehade ja B-hepatiidi pinnaantigeeni (HBsAg) suhtes. Samas ei leidu ühtegi testmeetodit, mis suudaksid kindlalt välistada verega edasikantavate nakkuste esinemist reagentides, seetõttu järgige testide tegemisel ning jääkmaterjalide hävitamisel nakkusohtlikele ainetele kehtestatud nõudeid.

PROOVIDE KOGUMINE JA KÄSITSEMINE

CanAg CA125 EIA testis kasutatakse seerumit. Vere võtmiseks tehke veenipunktsioon, eraldage seerum vastavalt laborieeskirjadele. Proove võib säilitada 24 tundi temperatuuril 2–8°C. Pikemaajaliseks säilitamiseks proovid külmutatakse -70°C juures või madalamal temperatuuril. Mitte hoida proove automaatsulatusega külmikus, mitte korduvalt sulatada ja külmutada. Külmutatud proovid jäetakse enne testimist üheks ööks temperatuurile 2–8°C aeglaselt sulama, seejärel viiakse enne testimist toatemperatuurile.

PROTSEDUUR

Vajalikud lisavahendid (ei kuulu komplekti)

- 1. Mikroplaadi loksuti**
Loksutamise intensiivsus keskmisest tugevani, umbes 700–900 ostsillatsiooni / min.
- 2. Mikroplaadi pesija**
Automaatne mikroplaadi pesija, mis suudab sooritada 1, 3 ja 6 pesutsükli, miinimum täitemahuga 350 µL/testsüvend/pesutsüklil.
Kui ei kasutata mikroplaadi automaatpesijat, soovitatakse kasutada manuaalseadet Nunc Immuno-8 manual strip washer.
- 3. Mikroplaadi spektrofotomeeter**
Lainepikkusel 620 nm ja/või 405 nm, absorptsioonivahemik 0 kuni 3,0.
- 4. Täpsuspipetid**
Ühekordsete plastotsikutega, mikrolitrite mahtude pipeteerimiseks. Soovitatakse kasutada 8 kanaliga pipette või dispenseripipette ühekordsete plastikotsikutega 100 µL pipeteerimiseks, kuid see ei ole nõue. Pipetid milliliitrite mahtude pipeteerimiseks.
- 5. Destilleeritud või deioniseeritud vesi**
Pesulahuse valmistamiseks.

Märkused protseduuri kohta

1. Enne CanAg CA125 EIA testi kasutamist tutvuge kasutusjuhendiga. Kasutage ainult komplektis olevaid reagente. Ärge kasutage koos samu reagente, mis on erinevatest partiidest. Ärge kasutage reaktiive pärast aegumistähtaega (trükitud karbi etiketile)..
2. Enne kasutamist peavad reaktiivid olema toatemperatuuril (20–25°C). Tulemuste õigsuse kindlustamiseks viiakse test läbi temperatuuril 20–25°C. Külmutatud proove pärast sulatamist segada.
3. Enne kalibraatorite ja proovide pipeteerimist soovitatakse ribad tähistada, et proovid oleksid testi tegemisel üheselt identifitseeritavad.
4. EIA testi juures on üks tähtsamaid etappe efektiivne ja põhjalik pesufaas, mille käigus eemaldatakse seondumata antigeenid ja reagentid antikeha-antigeen kompleksist. Pesemise õnnestumiseks kontrollige, et kõik testsüvendid oleksid igas pesutsüklis pesulahusega ääreni täidetud, et pesulahust dispenseeritakse sobival voolukiirusel, et enne ja pärast pesufaasi toimuks täielik aspiratsioon ning süvendid saaksid tühjaks. Kui süvenditesse jääb vedelikku, keerake plaat tagurpidi ja koputage vastu kuivatuspaberit.
Automaatne ribapesija: puhastamisel ja hooldusel järgige tootja kasutus- ja hooldusjuhiseid, viige enne ja pärast inkubatsiooni läbi nõutud arv pesutsükleid. Soovitatakse kasutada ribatöötlusrežiimi (strip process) ning täitmisel kasutada ületäitmist (overflow) dispenseerimismahuga 800 µl. Ärge jätke aspiratsiooni-/pesemisseadeldisse pikemaks ajaks pesulahust, nõelad võivad ummistuda.
5. TMB HRP substraat on väga tundlik saastumise suhtes. TMB HRP substraadi stabiilsuse tagamiseks valage pudelikesest ettenähtud kogus puhtasse nõusse või soovitatavalt ühekordsele plastalusele, et ülejäänud reaktiiv ei saastuks. Pipetidel kasutage puhtaid ühekordseid plastotsikuid (või dispensaatorpipeti otsikuid).
6. Proovide ja reaktiivide käsitlemisel kasutage ainult puhtaid ühekordseid plastist pipetiotsikuid ja täppis-pipeteerimise võtteid. Ristsaastumise vältimiseks ärge puudutage pipetiotsaga plastriba ega lahuse pinda. Proovide ja TMB HRP lahuse käsitlemisel on õiged pipeteerimisvõtted äärmiselt olulised.

Reagentide ettevalmistamine	Valmisreagendi stabiilsus
-----------------------------	---------------------------

Pesulahus 2 nädalat temperatuuril 2–25°C
hermeetiliselt suletud anum

Kallake 50 mL pesulahuse kontsentrati puhtasse anumasse, lahjendage 25-kordselt, lisades 1200 mL destilleeritud või deioniseeritud vett, saadakse puhvriga pesulahus.

Konjugaadi töölahus 3 nädalat temperatuuril 2–8°C
hermeetiliselt suletud anum

Valmistage vajalik kogus konjugaadi töölahust, selleks segage iga riba kohta 50 µL konjugaati (HRP Anti-CA125) 1 mL konjugaadi diluendiga (vt alltoodud tabelit):

Ribade arv	HRP Anti-CA125 konjugaat (µL)	Diluent (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

Konjugaadi töölahuse valmistamisel kasutage puhast plastikust või klaasist katsutit.

Teine võimalus: kallake konjugaadivaali sisu (HRP Anti-CA125) konjugaadi diluendi viaali ja segage kergelt. Kontrollige, et lahjenduslahusesse satuks kogu konjugaadivaali sisu.

MÄRKUS: konjugaadi töölahus on stabiilne 3 nädalat temperatuuril 2–8°C. Ärge valmistage rohkem lahust, kui selle aja jooksul kavatsete ära kasutada; järgige lahusele ettenähtud hoiutingimusi 15

Testptseduur

Testige nii kalibraatoreid, kontrolle kui ka patsiendiproove duplikaadis. Enne kasutamist peavad kõik reagentid ja proovid olema toatemperatuuril (20–25°C).

1. Alustage pesulahuse ja konjugaadi töölahuse valmistamist. Kasutage ainult puhtaid anumaid. Järgige täpselt kasutusjuhiseid.
2. Viige vajalik arv mikroplaadiribasid raamile (kasutamata ribad pange kohe tagasi alumiiniumkotti, kuhu jääb ka desikant, ning sulgege hoolikalt). Peske igat riba üks kord pesulahusega. Ärge peske rohkem ribasid, kui jõuaksite 30 minuti jooksul käsitseda.
3. Pipeteerige riba testsüvenditesse 25 µL CA125 kalibraatoreid (CAL 0, 10, 40, 200, 500), CA125 kontrolle (C 1, C 2) ja patsiendiproovi (unknown-Unk) järgmise skeemi alusel:

	1	2	3	4	5	6	7 jne
A	Cal 0	Cal 500	teine Unk				
B	Cal 0	Cal 500	teine Unk				
C	Cal 10	C1 F	jne				
D	Cal 10	C1					
E	Cal 40	C2					
F	Cal 40	C2					
G	Cal 200	esimene Unk					
H	Cal 200	esimene Unk					

- Lisage igasse süvendisse 100 µL Biotin Anti-CA125 , kasutage selleks 100 µL täppispiipetti (või 8-kanaliga 100 µL täppispiipetti). Ärge puudutage otsikuga vedeliku pinda ega plastikriba, et ei tekiks ristsaastumist.
- Inkubeerige plaati 2 tundi (+/- 10 min) toatemperatuuril (20-25°C), plaati pidevalt loksutades, kasutage mikroplaadi loksutajat.
- Pärast esimest inkubeerimist aspireerige ja peske igat riba 3 korda, kasutades osas "Märkused protseduuri kohta", punkt 4 kirjeldatud pesuprotseduuri.
- Lisage igasse testsüvendisse 100 µL konjugaadi töölahust, kasutades ülaltoodud punktis nr 4 kirjeldatud pipeteerimisprotseduuri.
- Inkubeerige raami 1 tund (± 5 min) toatemperatuuril (20–25°C), pidevalt loksutades.
- Pärast teist inkubeerimist aspireerige ja peske ribasid 6 korda, kasutades osas "Märkused protseduuri.
- Lisage igasse süvendisse 100 µL TMB HRP substraati, kasutades ülaltoodud punktis nr 4 kirjeldatud pipeteerimisprotseduuri. TMB HRP substraati lisatakse süvenditesse võimalikult kiiresti, esimesest süvendist viimasesse jõudmine ei tohi kesta üle 5 min.
- Inkubeerige 30 min (± 5 min) toatemperatuuril (20–25°C), pidevalt ribasid loksutades. Ärge hoidke otseses päikesevalguses.
- Lugege kohe mikroplaadi spektrofotomeetriga absorptsiooni lainepikkusel 620 nm.

Teine variant

Kui laboril ei ole mikroplaadi lugejat, mis loeks lainepikkusel 620 nm, vt järgmisest punktist absorptsiooni määramise alternatiivi:

Alternatiivne punkt 12: lisage 100 µL reaktsiooni seiskamise lahust, segage ja lugege absorptsiooni lainepikkusel 405 nm mikroplaadi spektrofotomeetriga, 15 min jooksul pärast stopp-lahuse lisamist.

Mõõtevahemik

CanAg CA125 EIA testiga mõõdetakse kontsentratsioone vahemikes 1,5 ja 500 U/mL.

Kui eeldatakse, et testitava proovi CA125 kontsentratsioonid on suuremad kui mõõtevahemik, soovitatakse proove enne analüüsimist lahjendada CA125 null-kalibraatoriga.

Kvaliteedi kontroll

Testseeria valideerimiseks kasutatakse CA125 kontrolle 1 ja 2.

Tulemuste ettenähtud vahemikud on näidatud viaali etikettidel. Kui väärtused jäävad väljapoole ettenähtud vahemikku, kontrollige üle reagendid ning lugeja tööd ja korrake testi. Labor võib valmistada ka ise laborisiseseks testi täpsuse hindamiseks erinevatel tasemetel seerumi puule.

Referentsmaterjal

Kuivõrd CA125 antigeeni kohta ei leidu üldkasutatavaid referentsmaterjale, siis on CanAg CA125 EIA kalibraatori kalibr.väärtused määratud laborisisesete referentsstandardite alusel.

TULEMUSTE ARVUTAMINE

Kui kasutatakse mikroplaadi spektrofotomeetrit integreeritud andmetöötlusprogrammiga, siis koostage vastavalt kasutusjuhendile vastav arvutusprogramm CA125 kalibraatorite etikettidel toodud kontsentratsioonide alusel .

CA125 tulemuste automaatsel arvutamisel soovitatakse kasutada ühte järgmistest meetoditest:

- “Cubic spline curve fit” meetod. Kalibraator 0 sisaldub kõveras, väärtusega 0 U/mL.
- “Spline smoothed curve fit” meetod. Kalibraator 0 kasutatakse kui plaadi blank'i.
- “Interpolation with point-to-point evaluation”. Kalibraator 0 sisaldub kõveras, väärtusega 0 U/mL.
- “Quadratic curve fit” meetod. Kalibraator 0 sisaldub kõveras, väärtusega 0 U/mL.

MÄRKUS: ei soovitata kasutada 4-parameetrilist või lineaarregressiooni meetodit.

Manuaalsel hindamisel on kalibratsioonikõvera loomise aluseks punktid, mis saadakse iga CA125 kalibraatori ja vastava CA125 kontsentratsiooni suhtest (in U/mL), vt alltoodud joonist. Seejärel saab kalibratsioonikõveralt lugeda CA125 kontsentratsioonid, kasutades iga patsiendiproovi keskmist absorptsiooni.

Kui esialgsel analüüsil on proovi CA125 tasemed kõrgemad kui 500 U/mL , lahjendage õige testtulemuse saamiseks proove vahekorras 1:10 ja 1:100 CA125 0-kalibraatoriga.

Lahjendus 1:10 = 50 µL proovi + 450 µL CA125 kalibraator 0

Lahjendus 1:100 = 50 µL 1:10 lahjendust + 450 µL CA125 kalibraator 0

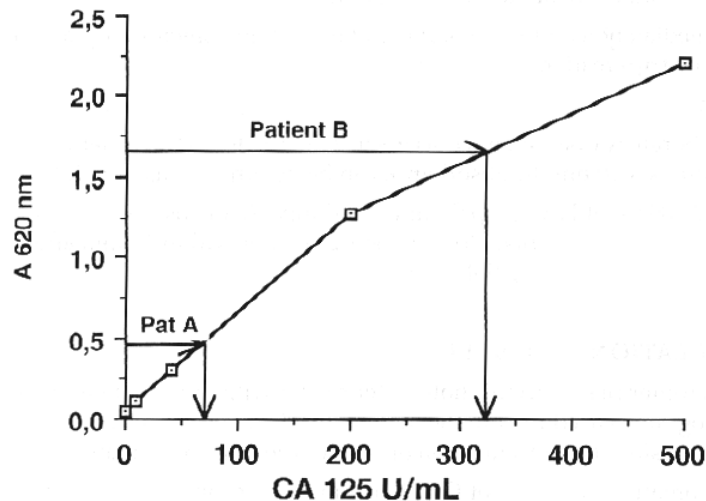
Seejärel arvutatakse lahjendamata proovi CA125 kontsentratsioon järgmiselt:

Lahjendus 1:10: 10 x mõõdetud väärtus

Lahjendus 1:100: 100 x mõõdetud väärtus

Tulemuste näide

Proov	Kalibraatori väärtused	Keskmine abs väärtus (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
Proov A		0,490	69,8
Proov B		1,650	325



Antud arvutus on toodud ainult näitena, ärge kasutage seda kõverat testitulemuste arvutamisel!.

PIIRANGUD

CA125 taseme näitu ei saa kasutada pahaloomulise haiguse kinnitamiseks või välistamiseks; CA125 testi ei kasutata vähi skriiningul. Testi tulemuste hindamisel arvestatakse alati ka teiste uuringute ja protseduuride tulemusi, CA125 test ei asenda väljatöötatud kliinilisi uuringuid.

Patsiendiproovis olevad reagentide vastu suunatud antikehad (human anti-mouse antibody, HAMA või heterofiilsed antikehad) võivad mõnikord testi tulemust mõjutada, kuigi testpuhvrites sisaldub spetsiifilisi blokaatoreid.

ETTENÄHTUD VAHEMIKUD

100 tervel naissoost veredoonoril mõõdeti CanAg CA125 taset. Keskmiseks tasemeks saadi 14,7 U/mL, standardhälve 7,7. Mediaanväärtuseks oli 13,1 U/mL, vahemik 5,06– 47,9 U/mL. Alumiste ja ülemiste ekstreemväärtuste uurimisel kasutati IFCC soovitatud mitteparameetrilist statistilist andmekäitlust.

Referentsintervall sisaldab kesksed 95% fraktsiooni referentsdistributsioonist. Referentspiirideks võib hinnanguliselt määrata seega fraktsioonid 2,5% (madalam) ja 97,5% (kõrgem). Nende piiride puhul jääb distributsiooni kummastki otsast välja 2,5% väärtustest. Mitteparameetriline arvestuslik väärtus:

N=100

Fraktsioon	Referentspiir (U/mL)
2,5 (madalam)	5
97,5 (kõrgem)	39

96% tervetest naistest olid testi väärtused alla 35 U/mL.

Laboril soovitakselt leida oma normaalväärtuste piir, võttes arvesse kohalikke tegureid nagu toitumusharjumused, kliima, elutingimused, patsientide selektiivsus, jne. Ei tohi unustada, et markeri tulemuste hindamisel on kõige olulisemaks referentsväärtuseks patsiendi enda eelmiste testide tulemused (6).

TESTI ISELOOMUSTAVAD ANDMED

Täpsus

Kogutäpsuse määramisel järgiti NCCLS juhiseid EP5-A (7) , kasutades külmutatud puulitud inimese seerumit, millele oli neljal tasemel lisatud astsiidi puuli. Igat proovi pipeteeriti (n=2/analüüs) ja analüüsiti kaks korda igal päeval, kokku 10 päeva jooksul. Analüüse tehti 8 kuu jooksul, neid tegid kaks erinevat laobranti , kasutades 10 erinevast partiist CanAg CA125 EIA teste.

Proov	Replikaadid	Keskmine U/mL	Tsüklilisene SD (U/mL)	Tsüklilisene CV %	Päevadevaheline SD (U/mL)	Päevadevaheline 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	8,55	4,3	7,58	3,8
CA125 4	40	392	11,4	2,9	15,5	4,0

Määramispiir

CanAg CA125 EIA määramispiiriks on < 1.5 U/mL Määramispiiriks on kontsentratsioon, mis vastab CA125 Calibrator 0 pluss 2 standardhälbe väärtusi vastavalt valemile:

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

Saagis (Recovery)

Normaalsetele seerumiproovidele lisati inimese CA125 antigeeni; antigeeni saagiseks oli $100 \pm 15\%$. Hook-effect ehk negatiivne tulemus ülisuurtel kontsentratsioonidel
Hook-efekti ei täheldatud kontsentratsioonil kuni 50 000 U/mL. MÄRKUS: ülisuure kontsentratsiooni puhul muutub substraadi värv sinisest roheliseks (äärmuslikel juhtudel lõpuks kollaseks). Sellisel juhul ei ole 620 nm lainepikkusel lugedes kontsentratsioon tõene (st liiga madal), äärmuslikel juhtudel leiab aset hook-efekt.

Linearsus

Proovidest tehti lahjenduste seeria, lahjenduseks kasutati CA125 kalibraatorit 0. Saadud väärtused vastasid ettenähtud väärtustele $100 \pm 15\%$.

Spetsiifilisus

CanAg CA125 EIA test põhineb kahe monoklonaalse hiire antikehal, Ov197 ja Ov185, mis on suunatud CA125 antigeeni tuuma kahe iseseisva epitoobi vastu (4). Võimalike interferentsiallikate määramisel lähtuti NCCLS juhistest EP7-P (8). Järgmiseid aineid järgmistel kontsentratsioonidel ei mõjuta testi toimimist.

	Kontsentratsioon, mis ei mõjutanud oluliselt (10%) testi toimimist
Lipeemia (Intralipid®)	4 mg/mL
Bilirubiin, konjugeerimata	0,6 mg/mL
Hemoglobiin	5 mg/mL

GARANTII

Siintoodud andmed on saadud kirjeldatud testprotseduure järgides. Igasugune muudatud protseduuris , mida ei näe ette Fujirebio Diagnostics, võib mõjutada tulemusi, millest tulenevalt ei võta Fujirebio Diagnostics endale vastutust toote kaubanduslikkuse ja kasutuseesmärgiks sobivuse suhtes.

ALLIKAD

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, Hogberg T, Lindholm L (1994). In: *Current Tumor Diagnosis: Applications, Clinical Relevance, Research, Trends*. Ed R. Klapdor. Zuckswardt Verlag Munchen, 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., Soletormos, 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).

Protokoll

CanAg CA125 EIA REF 400-10

Komponendid segada vahetult enne testi tegemist. Kasutada juhendis ettenähtud loksustustingimusi.

Etapp	Viaali/plaadiga	Protseduur																																							
1. Valmistada pesulahus	WASHBUF 25X	Lahjendada 50 mL pesukontsentrati 1200 mL destilleeritud või deioniseeritud veega																																							
Valmistada konjugaadi töөлahus	CONJ Anti-CA125 DIL CONJ	Segada iga riba kohta 50 µL konjugaati (HRP Anti-CA125) 1 mL konjugaadi diluendiga:																																							
		<table border="1"> <thead> <tr> <th>Ribade arv</th> <th>HRP Anti-CA125 konjugaat (µL)</th> <th>Konjugaadi diluent (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> <tr><td>12</td><td>600</td><td>12</td></tr> </tbody> </table>	Ribade arv	HRP Anti-CA125 konjugaat (µL)	Konjugaadi diluent (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
Ribade arv	HRP Anti-CA125 konjugaat (µL)	Konjugaadi diluent (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. Pesta	MICROPLA	Pesta iga süvend ühe korra pesulahusega. Kasutada manuaalselt või automaatset pesijat																																							
3. Lisada kalibraatorid, kontrollid	CAL CA125 0, 10, 40, 200, 500 CONTROL CA125 1, 2	25 µL igasse süvendisse																																							
4. Lisada Biotin Anti-CA125	BIOTIN Anti-CA125	100 µL igasse süvendisse																																							
5. Inkubeerida	MICROPLA	Loksutada 2 tundi toatemperatuuril																																							
6. Pesta	MICROPLA	Pesta iga süvendit 3 korda pesulahusega. Kasutada manuaalselt või automaatset pesijat.																																							
7. Lisada konjugaadi töөлahus	TRACER WORKING SOLUTION	100 µL igasse süvendisse																																							
8. Inkubeerida	MICROPLA	Loksutada 1 tund toatemperatuuril																																							
9. Pesta	MICROPLA	Pesta iga süvendit 6 korda pesulahusega. Kasutada manuaalselt või automaatset pesijat.																																							
10. Lisada TMB HRP-substraat	SUBS TMB	100 µL igasse süvendisse																																							
11. Inkubeerida	MICROPLA	Loksutada 30 min toatemperatuuril																																							
12. Lugeda absorptsioon	MICROPLA	620 nm																																							
Alt.12 Lisada stopp-lahus	STOP	100 µL igasse süvendisse																																							
Alt.13 Inkubeerida	MICROPLA	Loksutada 1 min toatemperatuuril																																							
Alt.14 Lugeda absorptsioon	MICROPLA	Lugeda 405 nm, 15 min jooksul																																							



CanAg® on firma Fujirebio Diagnostics AB registreeritud kaubamärk 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

