



LIAISON® CA 125 II™ (314211)
Антиген CA 125

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Количественное определение антигена CA 125 в человеческой сыворотке и плазме (ЭДТА, гепарин) методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализаторов линейки LIAISON® с целью мониторинга состояния больных с первичной инвазивной карциномой яичников.

2. ВВЕДЕНИЕ

Две антигенные детерминанты, определяемые моноклональными антителами, обнаруживаются в гетерогенной группе гликопротеинов молекулярной массой 200-1000 кД. Они могут обнаруживаться в большом числе случаев неслизеобразующих эпителиальных опухолей яичников. Кроме того, они также обнаруживаются в некоторых эмбриональных тканях (амнионе, перидерме, производных целомического эпителия) и взрослых тканях (эпителии фаллопиевых труб, апокринных потовых железах, молочных железах, эндометрии и эндоцервиксе).

Повышенный результат исследования сыворотки с помощью набора реактивов LIAISON® CA 125 II™ обычно наблюдается у большинства больных раком эпителия яичников на начальных стадиях и поэтому может быть использован для мониторинга таких пациентов.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод количественного определения CA125 представляет собой 2-ступенчатый хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA) по принципу сэндвича. Два разных типа высоко специфичных мышинных моноклональных антител связаны с магнитными микрочастицами (твердая фаза) и мечены производным изолюминола (конъюгат антител с красителем). Во время инкубации молекулы CA125 II™, присутствующие в калибраторах, контролях и пробах, связываются с антителами твердой фазы и, затем, с антителами, мечеными изолюминолом. Сэндвич образуется только при наличии в пробе молекул антигена. После инкубации не связавшиеся молекулы удаляются во время цикла промывки. Затем к реакционной смеси добавляются реактивы для активации, индуцирующие хемилюминесцентную реакцию. Интенсивность люминесценции, измеряемая с помощью фотоумножителя в относительных единицах интенсивности, отражает концентрацию CA125 II™ в калибраторах, контролях и пробах пациентов.

4. СОСТАВ НАБОРА

Магнитные частицы (2,3 мл)	Магнитные частицы, покрытые мышинными моноклональными антителами M11 (к CA 125II)
Калибратор 1 (1 мл)	CA 125II в растворе человеческого альбумина, 0,09% азид натрия.
Калибратор 2 (1 мл)	CA 125II в растворе человеческого альбумина, 0,09% азид натрия.
Конъюгат (23 мл)	Мышинные моноклональные антитела OC125 (к CA 125II), меченные изолюминолом, БСА, 0,09% азид натрия.
Буфер А (13 мл)	IgG к мышинным моноклональным антителам; 0,09% азид натрия
Раствор для разведения образцов (25 мл)	БСА, 0,09% азид натрия.
Количество определений	100

Все реактивы готовы к использованию.

Необходимые материалы, не входящие в набор

Анализатор LIAISON® XL Кюветы (каталожный номер X0016). Одноразовые наконечники (каталожный номер X0015). Набор запускающих реактивов XL (каталожный номер 319200). Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100). Мешки для отходов XL (каталожный номер X0025)	Анализатор LIAISON® Реакционные модули (каталожный номер 319130). Набор запускающих реактивов (каталожный номер 319102) или набор запускающих реактивов XL (каталожный номер 319200). Реактив для ежедневной проверки анализатора (каталожный номер 319150). Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100). Мешки для отходов (каталожный номер 450003). Набор растворов для обслуживания анализатора (каталожный номер 310990).
--	---

Дополнительные материалы, рекомендованные для работы
Мульти-контроли для онкомаркеров (каталожный номер 319109)

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Только для *In vitro* диагностики.

Все образцы человеческой сыворотки/плазмы, использованные для производства набора, были протестированы на наличие антител к вирусу гепатита С, ВИЧ 1 и ВИЧ 2, а также HBs-антигена и были признаны отрицательно реагирующими в вышеуказанных тестах. Но, поскольку не существует метода исследований, который бы гарантировал полную инфекционную безопасность биоматериалов человеческого происхождения, рекомендуется обращаться с набором, как с потенциально инфекционными.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Не употребляйте пищу, напитки, не курите и не наносите косметику в лаборатории, где проводятся анализы.

Не пипетируйте растворы ртом.

Избегайте прямого контакта со всеми потенциально инфекционными материалами, надевая защитную одежду, такую как лабораторные халаты, защитные очки и одноразовые перчатки. В конце каждого анализа тщательно мойте руки.

Избегайте всплесков или образования аэрозолей. Любую утечку биологического реагента следует смыть с помощью раствора гипохлорита натрия с 0,5%-ным активным хлором и утилизировать как инфекционные отходы.

Все образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, используемые в анализе, должны считаться потенциально способными передавать инфекционные агенты. С отходами следует обращаться с осторожностью и утилизировать их в соответствии с лабораторными нормами и нормами законов, действующими в стране. Любые материалы, подлежащие повторному использованию, должны быть надлежащим образом стерилизованы в соответствии с местными законами и нормами.

Проверяйте эффективность цикла стерилизации/обеззараживания.

Реагенты, содержащие азид натрия (<0,1 %) [ЕС №247-852-1]:

DIRECTIVE	EC No. 1272/2008
HAZARD / RISK STATEMENTS	EUH 210 - Safety data sheet available on request

7. ПОДГОТОВКА ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ

7.1 Интегральный картридж реактивов.

Пожалуйста, обратите внимание на следующие важные меры предосторожности при работе с реагентами:

Ресуспендирование магнитных частиц

Магнитные частицы должны быть полностью ресуспендированы до того, как интеграл будет помещен в прибор. Чтобы обеспечить полное ресуспендирование частиц, выполните следующие действия:

Перед удалением алюминиевых мембран с флаконов, проверните колесо флакона с магнитными частицами, пока цвет суспензии не станет равномерно коричневым. Аккуратно перемешайте их содержимое, держа интеграл горизонтально, чтобы избежать пенообразования. Осмотрите нижнюю часть флакона, чтобы убедиться, что все магнитные частицы были ресуспендированы.

При необходимости повторите процедуру до полного ресуспендирования магнитных частиц.

После удаления алюминиевой мембраны тщательно протрите поверхность каждого флакона для удаления остатков жидкости, если необходимо.

Вспенивание реагентов

Чтобы обеспечить оптимальные рабочие характеристики интеграла, следует избегать пенообразования реагентов.

Придерживайтесь приведенных ниже рекомендаций по предотвращению вспенивания:

Перед использованием интеграла осмотрите реагенты, чтобы убедиться в отсутствии пены. Если после ресуспендирования магнитных частиц пена появилась, поместите интеграл в анализатор и подождите, пока пена исчезнет. Интеграл готов к использованию только тогда, когда пена исчезла, а интеграл с ресуспендированными частицами находится на борту.

Установка интеграла в область загрузки реактивов Анализатор

LIAISON®

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 30 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

Анализатор LIAISON® XL

- Анализатор LIAISON® XL оснащен встроенным твердотельным магнитным устройством, которое помогает ресуспендировать микрочастицы до размещения интеграла с реагентами в области загрузки реактивов анализатора. Для уточнения деталей обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.
 - а. Вставьте интеграл с реагентами в специальный разъем.
 - б. Оставьте интеграл с реагентами в твердотельном магнитном устройстве, по крайней мере, на 30 секунд (допускается до нескольких минут). Повторите по мере необходимости.
- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и

оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 15 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.

- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

7.2 Контроли

Для правильной хранения, подготовки и постановки и набора контрольных материалов LIAISON® Multi-Control Tumour Markers Set следовать соответствующей инструкции.

8. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ

Всегда храните интегралы в вертикальном положении, в противном случае последующее перемешивание магнитных частиц будет затруднено. Избегайте попадания прямых солнечных лучей.

Невскрытые реактивы стабильны до окончания срока годности при условии их хранения в вертикальном положении при температуре 2-8°C. Запрещается замораживать реактивы, входящие в состав картриджа. Запрещается использовать интеграл после окончания срока годности, указанного на этикетке интеграла. После вскрытия интеграла (удаления алюминиевых мембран) его содержимое стабильно в течение **не менее 2 недель** при условии хранения при температуре 2-8°C в холодильнике или на борту анализатора. После окончания этого периода использование интеграла возможно при условии, если результаты исследования контрольных сывороток лежат в допустимых пределах.

9. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Сыворотка или плазма. ЭДТА и гепарин могут быть использованы в качестве антикоагулянтов. Сыворотка/плазма должна быть отделена от клеток после забора крови как можно скорее. Мутные, липемичные пробы, а также пробы с твердыми частицами и дебрисом эритроцитов перед исследованием могут потребовать дополнительной очистки путем фильтрации или центрифугирования. Не рекомендуется исследовать сильно гемолизированные и липемичные пробы, а также пробы с признаками бактериальной контаминации. Перед установкой пробы в анализатор необходимо удалить все пузыри с ее поверхности.

Стабильность: 24 часа при температуре 2-8°C. Для более длительного хранения пробы должны быть заморожены при температуре -20°C или ниже. После разморозки пробу необходимо аккуратно перемешать. Избегайте повторного замораживания пробы.

Минимально необходимый объем 250 µл (100 µл на исследование + 150 µл мертвый объем).

10. КАЛИБРОВКА

Исследование калибраторов, входящих в состав интеграла, позволяет перекалибровать мастер-кривую, хранящуюся в памяти анализатора, с использованием значений концентрации калибраторов, зашифрованных в штрих-коде этикетки интеграла. Каждый калибратор рассчитан на 5 использований.

Калибровка должна быть проведена в трех повторах в следующих случаях:

- Используется новая серия набора реактивов или набора запускающих реактивов.
- Прошло более 2 недель с момента последней калибровки.
- Используется новый интеграл (рекомендация).
- Было проведено обслуживание анализатора.
- Результаты исследования контрольных сывороток выходят за пределы допустимого диапазона.
- Изменение температуры окружающей среды превышает 5°C.

Анализатор LIAISON®: значения концентраций калибратора содержатся в штрих-коде интеграла.

Анализатор LIAISON® XL: значения концентраций калибратора содержатся в радиочастотной метке.

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Строгое следование рекомендациям инструкции пользователя гарантирует получение корректных результатов.

Анализатор LIAISON®. Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в штрих-коде этикетки интеграла. Если информации с штрих-кода не читается, то картридж является непригодным к использованию. Не утилизируйте реагентный интеграл и свяжитесь с региональными представителями DiaSorin для получения дальнейших инструкций.

Процедура анализа, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

1. Раскапывание буфера А в кюветы реакционного модуля.
2. Добавление калибраторов, контролей или проб.
3. Добавление магнитных частиц.
4. Инкубация.
5. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
6. Добавление конъюгата.
7. Инкубация.
8. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
9. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности флуоресценции.

Анализатор LIAISON® XL. Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в радиочастотной метке интеграла. Если информации с радиочастотной метки не читается, то картридж является непригодным к использованию. Не утилизируйте реагентный интеграл и свяжитесь с региональными представителями DiaSorin для получения дальнейших инструкций. Процедура анализа, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

1. Раскапывание калибраторов, контролей или проб в кюветы.

2. Добавление буфера А и магнитных частиц.
3. Инкубация.
4. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
5. Добавление конъюгата.
6. Инкубация.
7. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
8. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности флуоресценции.

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Каждая лаборатория должна установить частоту проведения контроля качества самостоятельно.

Для контроля качества необходимо использовать контроль производства компании DiaSorin или другой коммерческий контроль:

- а. по меньшей мере 1 раз в день перед постановкой проб пациентов
- б. каждый раз при использовании нового реагентного картриджа
- в. Каждый раз после калибровки набора
- г. каждый раз при использовании нового лота Starter Kit
- д. для того, чтобы оценить адекватность работы открытого интеграла через 2 недели в соответствии с руководящими принципами или требованиями местных нормативных актов или аккредитованных организаций.

Контроли LIAISON® следует ставить в 1 повторности для контроля эффективности анализа. Контрольные значения должны лежать в пределах ожидаемого диапазона: всякий раз, когда один или оба контроля находятся за пределами ожидаемых диапазонов, следует провести калибровку и повторить тестирование контроля. Если контрольные значения, полученные после успешной калибровки, повторно выходят за пределы предварительно определенных диапазонов, тестирование следует повторить с использованием неоткрытого контрольного флакона. Если контрольные значения лежат вне ожидаемых диапазонов, результаты не должны сообщаться пациенту. Эффективность других контролей должна оцениваться на совместимость с данным анализом перед их использованием. Затем следует установить соответствующие диапазоны значений для используемых материалов контроля качества.

13. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализатор автоматически рассчитывает концентрацию CA125 II™ в Ед/мл. За более подробной информацией обратитесь к Инструкции пользователя.

Результаты измерений калибраторов и контролей анализаторами LIAISON® и LIAISON® XL в относительных световых единицах (RLU) или концентрационных единицах могут различаться, но результаты анализов проб пациентов будут одинаковыми.

13.1 Стандартизация

Исследование откалибровано с помощью набора реактивов IRMA CA125 II™ производства Fujirebio.

13.2 Диапазон исследования

До 1000 Ед/мл концентрации CA125 II™.

13.3 Референсные границы

В соответствии с общепринятой лабораторной практикой каждая лаборатория должна установить собственные референсные значения, отражающие их типовую популяцию. В качестве ориентировочных значений можно использовать приведенные ниже данные.

С помощью набора реактивов LIAISON® CA125 II™ было исследовано 100 проб здоровых доноров крови (50 женщин, 50 мужчин). Концентрация CA125 II™ 35 Ед/мл была определена как референсное значение. Однако граничное значение может меняться в зависимости от возраста и стадии менструального цикла.

14. ОГРАНИЧЕНИЯ

Реагенты следует использовать только в семействе анализаторов LIAISON®

Отдельные компоненты интеграла реагента не должны быть удалены из интеграла.

Этот комплект нельзя использовать после истечения срока годности, указанного на этикетке упаковки.

Строгое следование инструкциям к прибору и реактиву необходимо для получения достоверных результатов. Бактериальная контаминация или нагревание пробы может повлиять на результат исследования.

В некоторых случаях концентрация CA125 II™ у больных раковыми заболеваниями может не превышать граничного значения. Повышение концентрации CA125 II™ может также наблюдаться у больных доброкачественными заболеваниями, такими как перикардит, тяжелые повреждения печени, тяжелый эндометриоз, киста яичника, или карциномой матки, поджелудочной железы, печени и легких. Во время беременности концентрация CA125 II™ также может превышать граничное значение. В связи с этим при постановке диагноза результаты всегда следует рассматривать вместе с данными истории болезни и других диагностических исследований.

Пробы пациентов, получающих препараты мышинных моноклональных антител в целях терапии или диагностики, могут содержать анти-мышинные антитела (НАМА). Результаты исследования таких проб с помощью иммунологических методик,

основанных на использовании моноклональных антител, могут быть завышены или занижены. Несмотря на то, что НАМА-нейтрализующие компоненты входят в состав реактивов, слишком высокие концентрации НАМА могут случайным образом исказить результаты измерений.

Запрещается обмениваться интегралами между анализаторами LIAISON® и LIAISON® XL. Интеграл, однажды установленный на анализатор определенного типа, должен использоваться на этом анализаторе до самого конца. Запрещается оценивать динамику концентрации по результатам, полученным на разных типах анализаторов. Такие измерения должны быть выполнены на одном конкретном типе анализатора (либо LIAISON®, либо LIAISON® XL).

15. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

15.1 Аналитическая специфичность.

Аналитическую специфичность можно определить, как способность теста безошибочно выявлять специфический анализ в присутствии потенциально мешающих факторов в матриксе пробы (например, гемолиза, липемии или билирубинемии).

15.2 Интерференция: контролируемые исследования потенциально мешающих факторов или условий продемонстрировали, что характеристики теста не менялись в присутствии гемолиза (вплоть до концентрации гемоглобина 1000 мг/дл), липемии (вплоть до концентрации триглицеридов 12,5 мг/мл), билирубинемии (вплоть до концентрации билирубина 0,2 мг/мл).

15.3 Перекрестная реактивность:

Интерференция циклофосфамида, метотрексата, доксорубина, фторурацила или тамоксифена в терапевтических дозах не обнаружена.

15.4 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON®

Различные пробы, содержащие разные концентрации специфического анализа, были проанализированы с целью определения повторяемости и воспроизводимости теста (то есть вариабельности внутри серии и между сериями).

Вариация внутри серии			Вариация между сериями		
Среднее значение (Ед/мл)	КВ (%)	Кол-во	Среднее значение (Ед/мл)	КВ (%)	Кол-во
30,5	1,4	19	33,01	5,8	19
121,1	1,8	20	73,02	4,6	19
730,8	2,2	20	748,74	5,4	19

15.5 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON® XL

Различные пробы, содержащие разные концентрации специфического анализа, были проанализированы с целью определения повторяемости и воспроизводимости теста (то есть вариабельности внутри серии и между сериями).

Вариация внутри серии			Вариация между сериями		
Среднее значение (Ед/мл)	КВ (%)	Кол-во	Среднее значение (Ед/мл)	КВ (%)	Кол-во
9,9	2,7	20	43,4	6,8	20
38,7	2,0	20	88,4	3,6	20
439,2	1,4	20	421,8	4,5	20

15.6 Правильность исследования

Правильность исследования была определена с помощью теста разведения и восстановления.

15.7 Тест разведения.

Пробы (сыворотка) с высокой концентрацией СА 125 были исследованы перед и после разведения. Результаты были проанализированы с помощью метода линейной регрессии. В таблице представлены результаты линейного разведения проб. Начальная концентрация: 811 Ед/мл.

Разведение	Полученные значения (Ед./мл)	Ожидаемые значения (Ед./мл)	Восстановление (%)
1:1,25	656,7	648,9	101
1:1,67	486,7	486,6	100
1:2,5	315,0	324,4	97
1:5	153,8	162,2	95
1:10	75,8	81,1	94

15.8 Тест восстановления.

Пробы с внесением СА 125 были исследованы с помощью LIAISON® СА 125.

В таблице представлены результаты восстановления разного количества СА 125 внесением натуральной сыворотки (7,5 Ед/мл).

Полученные значения (Ед/мл)	Ожидаемые значения (Ед/мл)	Восстановление (%)
912,7	967,9	94
717,7	775,8	93
561,2	583,8	96
368,9	391,7	94
192,1	199,6	96
98,9	103,6	95

15.9 Эффект высокой дозы

Эффекта насыщения не наблюдалось до концентрации СА 125 106 700 Ед/мл.

При исследовании проб с крайне высокой концентрацией аналита, может наблюдаться эффект занижения результатов за счет влияния эффекта насыщения. Оценка влияния эффекта насыщения была проведена путем исследования пяти высококонцентрированных СА 125-смешанных образцов. Результат анализа, как и ожидалось, превышал верхнюю границу измеряемого диапазона и, значит, не привел к ошибочной классификации пробы.

15.10 Аналитическая чувствительность:

определенная как минимальная концентрация от 0 с 2 стандартными отклонениями составила менее $< 0,30$ Ед/мл.