

AFF IRMA KIT

REF IM1441, IM3285

TABLE OF CONTENTS

English	2	Čeština (CZ)	29
Français (FR)	5	Slovenčina (SK)	32
Deutsch (DE)	8	한국어 (KO)	35
Italiano (IT)	11	Türkçe (TR)	38
Español (ES)	14	Русский (RU)	41
Ελληνικά (EL)	17	中文 (ZH-TW)	44
Lietuviškai (LT)	20	Србија (SR)	46
Magyar (HU)	23	APPENDIX	49
Polski (PL)	26		

ООО «Бекмен Култер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел. +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com



IMMUNOTECH s.r.o., Radiova 1, 102 27 Prague 10, Czech Republic

AFP IRMA KIT

REF IM1441, IM3285

IMMUNORADIOMETRIC ASSAY FOR THE IN VITRO DETERMINATION OF AFP

IN HUMAN SERUM OR AMNIOTIC FLUID
For *in vitro* diagnostic use

PRINCIPLE

The AFP assay is a two-step "sandwich" type assay in which two monoclonal mouse antibodies, directed against two different epitopes of the molecule, are employed. The samples or calibrators are first incubated in tubes coated with the first monoclonal antibody. The contents of the tubes are then aspirated and the presence of AFP in the sample is revealed by incubation with the second, ¹²⁵I labelled antibody. The contents of the tubes are aspirated and the bound radioactivity is determined in a gamma counter. The AFP concentrations in the samples are obtained by interpolation from the standard curve. The concentration of AFP in the samples is directly proportional to the radioactivity.

Data may be used:

- In oncology,
- In conjunction with hCG and unconjugated estriol concentrations in Down's syndrome (trisomy 21) risk assessment. Such an approach has been verified on the basis of multivariate Gaussian distribution analysis (Wald et al.: Brit Med J 297, 883 – 887; 1988). It's strongly recommended to use validated (CE marked) software designated specifically for trisomy 21 risk evaluation, e.g. software alpha™ (alpha is the trademark of Logical Medical Systems).

WARNING AND PRECAUTIONS

General remarks:

- Do not mix the reagents from kits of different lots.
- The vials with calibrators and controls should be opened as shortly as possible to avoid excessive evaporation.
- A standard curve must be included with each assay.
- It is recommended to perform the assay in duplicate.
- Each tube must be used only once

Basic rules of radiation safety

The purchase, possession, utilization, and transfer of radioactive material are subject to the regulations of the country of use. Adherence to the basic rules of radiation safety should provide adequate protection:

- No eating, drinking, smoking or application of cosmetics should be carried out in the presence of radioactive materials.
- No pipeting of radioactive solutions by mouth.
- Avoid all contact with radioactive materials by using gloves and laboratory overalls.
- All manipulation of radioactive substances should be done in an appropriate place, distant from corridors and other busy places.
- Radioactive materials should be stored in the container provided in a designated area.
- A record of receipt and storage of all radioactive products should be kept up to date.
- Laboratory equipment and glassware which are subject to contamination should be segregated to prevent cross-contamination of different radioisotopes.
- Each case of radioactive contamination or loss of radioactive material should be resolved according to established procedures.
- Radioactive waste should be handled according to the rules established in the country of use.

Sodium azide

Some reagents contain sodium azide as a preservative. Sodium azide can react with lead, copper or brass to form explosive metal azides. Dispose of the reagents by flushing with large amounts of water through the plumbing system.

Materials of human origin

The materials of human origin, contained in this kit, were found negative for the presence of antibodies to HIV 1 and HIV 2, antibodies to HCV, as well as of Hepatitis B surface antigen (HBsAg). However, they should be handled as if capable of transmitting disease. No known test method can offer total assurance that no virus is present. Handle this kit with all necessary precautions.

All serum samples should be handled as if capable of transmitting hepatitis or AIDS and waste should be discarded according to the country rules.

GHS HAZARD CLASSIFICATION

Wash Solution (20X)

DANGER



H360

May damage fertility or the unborn child.

P201

Obtain special instructions before use.

P280

Wear protective gloves, protective clothing and eye/face protection.

P308+P313

IF exposed or concerned:
Get medical advice/attention.
Boric Acid 0.1 - 0.3%
Sodium Borate Decahydrate
0.1 - 0.3%



Safety Data Sheet is available at techdocs.beckmancoulter.com

SPECIMEN COLLECTION, PROCESSING, STORAGE AND DILUTION

Serum samples

- Collect blood in tubes without additive.
- Separate serum by centrifugation.
- Serum samples may be kept at 2-8°C, if they are to be assayed within 24 hours. For longer storage keep frozen at <-18°C (2 months maximum) or preferably at <-80°C (1 year maximum) in aliquots to avoid repeated freezing and thawing. Thawing of sample must be performed at room temperature.
- If samples have concentrations greater than the highest calibrator, they must be diluted into phosphate buffer.

Amniotic fluid samples

- Collect amniotic fluid in dry tubes without additive.
- Amniotic fluid samples may be kept at 2-8°C, if they are to be assayed within 24 hours. For longer storage keep frozen at <-18°C (2 months maximum) or preferably at <-80°C (1 year maximum) in aliquots to avoid repeated freezing and thawing. Thawing of sample must be performed at room temperature.
- Amniotic fluid samples are diluted 1:100 in phosphate buffer prior to assay.

MATERIALS PROVIDED

All reagents of the kit are stable until the expiry date indicated on the kit label, if stored at 2-8°C. Expiry dates printed on component vial labels apply to the long-term storage by manufacturer only, prior to assembling of the kit. Do not take into account.

Storage conditions for reagents after reconstitution or dilution are indicated in paragraph Procedure.

Kit for determination of AFP, 100 tubes (Cat. # IM1441)

Anti-AFP monoclonal antibody-coated tubes: 2x 50 tubes (ready-to-use)

Monoclonal ¹²⁵I-labelled anti-AFP tracer antibody: one 22 mL (ready-to-use).

The vial contains 320 kBq at the date of manufacture of ¹²⁵I-labelled immunoglobulin in buffer containing bovine serum albumin, sodium azide (<0.1%) and a dye.

AFP calibrators: six 0.5 mL vials (ready-to-use).

The calibrator vials contain from 0 to approximately 400 IU/mL AFP in bovine serum with sodium azide (<0.1%). The exact concentrations are indicated

on each vial label. The calibrators were calibrated using the International Standard of Alpha-fetoprotein, Human 72/225. (1 IU WHO = 1.21 ng AFP)

Control samples: two vials (lyophilized)

The vials contain AFP in lyophilised human serum. The expected values are in the concentration range indicated on a supplement.

Phosphate buffer: one 30 mL vial; ready for use.

The vial contains buffer with bovine serum albumin.

Wash solution (20x): one 50 mL vial

Concentrated solution has to be diluted before use.

Kit for determination of AFP, 400 tubes (Cat. # IM3285)

Anti-AFP monoclonal antibody-coated tubes: 8 x 50 tubes (ready-to-use).

Monoclonal ¹²⁵I-labelled anti-AFP tracer antibody: four 22 mL vials. (ready-to-use).

AFP Calibrators: six 0.5 mL vials, (ready-to-use).

Control samples: two vials (lyophilized)

Phosphate buffer: four 30 mL bottles; ready-to-use

Wash solution (20X): two 50 mL vials

MATERIALS REQUIRED, BUT NOT PROVIDED

In addition to standard laboratory equipment, the following items are required:

- precision micropipets (50 µL)
- semi-automatic pipets (150 µL, 200 µL, 2 mL)
- vortex type mixer
- horizontal or orbital shaker
- aspiration system
- gamma counter set for 125 iodine

PROCEDURE

Preparation of reagents

Let all the reagents come to room temperature.

Reconstitution of control samples

The content of the vials is reconstituted with the volume of distilled water indicated on the label. Wait for 10 min following reconstitution and mix gently to avoid foaming before dispensing. Store the reconstituted solutions aliquoted at < -18°C, until the expiry date of the kit.

Preparation of wash solution

Pour the content of the vial into 950 mL of distilled water and homogenize. The diluted solution may be stored at 2-8°C until the expiry date of the kit.

Summary of assay procedure

Let all the reagents come to room temperature.

Step 1 1 st incubation	Step 2 Washing
To coated tubes add successively: 50 µL of calibrator or sample and 150 µL of phosphate buffer. Mix. Incubate for 15 min at 18-25°C with shaking at >280 rpm.	Aspirate carefully the contents of each tube. Add 2 mL of wash solution and aspirate carefully.

Step 3 2 nd incubation	Step 4 Washing and counting
Add 200 µL of tracer to all tubes. Mix. Incubate for 30 min at 18-25°C with shaking at >280 rpm.	Aspirate carefully the contents of each tube (except of 2 tubes for total activity T). Wash the tubes with 2 mL of wash solution and then aspirate. Count bound cpm (B) and total cpm (T) for 1 min.

*Add 200 µL of tracer to each of 2 additional tubes to obtain total cpm.

RESULTS

Results are obtained from the standard curve by interpolation. The curve serves for the determination of AFP concentrations in samples measured at the same time as the calibrators.

Standard curve

The results in this package insert were calculated using a log-log curve fit ("spline" mode) with determined radioactivity (cpm_{cat} - cpm_{cal0}) on vertical axis and the AFP concentration of the calibrators on the horizontal axis (IU/mL). Other data reduction methods may give slightly different results.

Total activity: 107,924 cpm				
Calibrators	IU/mL	cpm (n=3)	B/T (%)	cpm _{cat} - cpm _{cal0}
0	0	20	0.02	-
1	3	2,096	1.83	2,076
2	10	6,511	5.68	6,491
3	40	22,881	20.0	22,861
4	150	61,576	53.7	61,556
5	400	94,180	82.2	94,160

(Example of standard curve, do not use for calculation)

Samples

Locate the (cpm_{sample} - cpm_{cal0}) value for each serum or diluted amniotic fluid sample on the vertical axis of the standard curve, read-off the AFP concentration of the sample on the horizontal axis in IU/mL. The concentrations of diluted samples must be corrected by the dilution factor.

To convert IU/mL to ng/mL, multiply results by 1.21.

EXPECTED VALUES

Oncology - normal AFP serum concentrations

It is suggested that each laboratory establishes its own normal values. Results should be interpreted in the light of the total clinical presentation of the patient, including clinical history, data from additional tests and other appropriate information.

The following values obtained with healthy subjects are indicative only. The serum AFP concentrations shown in the table were obtained from 58 healthy male and 36 healthy female donors.

	Number of samples	Conc. range (IU/mL)	Median (IU/mL)
Male	58	0.46 - 6.41	3.12
Female	36	0.49 - 9.84	1.94

Screening of congenital malformations

Results should be interpreted in the light of the total clinical presentation of the patient, including clinical history, data from additional tests and other appropriate information.

Laboratoires should establish their own references values according to the method they have chosen for the Down syndrome risk assessment. Out of this context, an isolated AFP data have no diagnostic value by itself.

QUALITY CONTROL

Good laboratory practices imply that control samples must be used regularly to ensure the quality of the results obtained. These samples must be processed exactly in the same way as the assay samples, and it is recommended to analyse their results using appropriate statistical methods.

In case of packaging deterioration or if data obtained show some performance alteration, please contact your local distributor or use the following e-mail address: imunochem@beckman.com

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

(for more details, see the data sheet "APPENDIX")

Representative data are provided for illustration only. Performance obtained in individual laboratories may vary.

Sensitivity

Analytical sensitivity: 0.11 IU/mL

Functional sensitivity: 0.2 IU/mL

Specificity

The antibodies used in this kit exhibit no cross-reaction with human serum albumin, transferrin, human IgG, haemoglobin or bilirubin.

Precision

Intra-assay

Samples were assayed 25 times in the same series. The coefficients of variation were found below or equal to 6.9% for serum and 3.0% for amniotic fluid.

Inter-assay

Samples were assayed in duplicate in 10 different series. The coefficients of variation were found below or equal to 6.3% for serum and 10.9% for amniotic fluid.

Accuracy**Dilution test**

High-concentration samples were serially diluted in phosphate buffer. The recovery percentages obtained were between 86% and 111% for serum and between 92% to 112% for amniotic fluid.

Recovery test

Low-concentration samples were spiked with known quantities of AFP. The recovery percentages obtained were between 88% and 108% for serum and between 100% to 119% for amniotic fluid.

Measurement range (from analytical sensitivity to highest calibrator): 0.11 to approximately 400 IU/mL.

LIMITATIONS

The non-respect of the instructions in this package insert may affect results significantly.

Do not use hemolyzed, lipemic or icteric samples.

For assays employing antibodies, the possibility exists for interference by heterophile antibodies in the patient sample. Patients who have been regularly exposed to animals or have received immunotherapy or diagnostic procedures utilizing immunoglobulins or immunoglobulin fragments may produce antibodies, e.g. HAMA, that interfere with immunoassays.

Such interfering antibodies may cause erroneous results. Carefully evaluate the results of patients suspected of having these antibodies.

Hook effect

There is no hook effect when the two-step procedure is used.

AFP IRMA KIT

REF IM1441, IM3285

TROUSSE IMMUNORADIOMETRIQUE POUR LE DOSAGE IN VITRO DE L'AFP

DANS LE SERUM HUMAIN OU LE FLUIDE AMNIOTIQUE Utilisation comme test de diagnostic *in vitro*

PRINCIPE

Le dosage de l'AFP est basé sur la technique de type "sandwich" en deux temps dans lequel deux anticorps monoclonaux de souris, dirigés contre deux épitopes différents de la molécule, sont utilisés. Les échantillons ou les calibrateurs sont d'abord incubés dans des tubes recouverts du premier anticorps monoclonal. Le contenu des tubes est ensuite aspiré et la présence de l'AFP dans les échantillons est révélée lors de l'incubation par le deuxième anticorps marqué à l'iode 125. Le contenu des tubes est aspiré et la radioactivité liée est mesurée dans un compteur gamma. La concentration en AFP dans les échantillons est déterminée par interpolation à l'aide de la courbe standard. La concentration en AFP dans les échantillons est directement proportionnelle à la radioactivité.

Les données peuvent être utilisés :

- En oncologie,
- en association avec les résultats d'autres analytes hCG- Estriol non conjugué pour l'évaluation du risque dans le dépistage du syndrome de Down (trisomie 21). Une telle approche a été vérifiée par l'analyse de la distribution Gaussienne multivariée (Wald et al.: Brit Med J 297, 883 – 887; 1988). Il est fortement recommandé d'utiliser le software spécial validé (CE marqué) pour évaluer le risque de trisomie 21, par exemple, software alpha™ (alpha est la marque de commerce de Systemes Logical Medical).

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Précautions générales

- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents.
- Les flacons de calibrateurs et de contrôles doivent être ouverts des temps aussi courts que possible afin d'éviter une évaporation trop importante.
- Effectuer simultanément la courbe standard et le dosage des échantillons.
- Il est recommandé de réaliser les dosages en double.
- Chaque tube ne doit être utilisé qu'une seule fois.

Les règles de bases de la radio protection

L'achat, la possession, l'utilisation et l'échange de matières radioactives sont soumis aux réglementations en vigueur dans le pays de l'utilisateur. L'application des règles de base de protection contre les rayonnements ionisants assure une protection adéquate.

- Ne pas manger, ni boire, ni fumer, ni appliquer de cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés.
- Ne pas pipeter des solutions radioactives avec la bouche.
- Eviter le contact direct avec tout produit radioactif en utilisant des blouses et des gants de protection.
- Toute manipulation de matières radioactives se fera dans un local approprié, éloigné de tout passage.
- Les produits radioactifs seront stockés dans leur conditionnement d'origine dans un local approprié.
- Un cahier de réception et de stockage de produits radioactifs sera tenu à jour.
- Le matériel de laboratoire et la verrerie qui ont été contaminés doivent être éliminés au fur et à mesure afin d'éviter une contamination croisée de plusieurs isotopes.
- Chaque cas de contamination ou perte de substance radioactive devra être résolu selon les procédures établies.
- Toute mise aux déchets de matière radioactive se fera en accord avec les règlements en vigueur.

Azide de sodium

Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium comme agent conservateur. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb, le cuivre et

le laiton, et former des azides métalliques explosifs. Lors du rejet de telles solutions à l'évier, laisser couler un volume important d'eau dans les canalisations.

Les produits d'origine humaine

Les produits d'origine humaine contenus dans les réactifs de cette trousse ont subi un dépistage négatif, concernant les anticorps anti-VIH 1, et VIH 2, les anticorps VHC, et l'antigène de surface HBs, mais doivent cependant être manipulés comme des produits infectieux. En effet, aucune méthode connue ne peut assurer l'absence complète de virus, c'est pourquoi il est nécessaire de prendre des précautions lors de leur manipulation.

Tous les échantillons de sérum doivent être manipulés comme étant susceptibles de contenir les virus de l'hépatite ou du SIDA et les déchets doivent éliminés selon les réglementations nationales en vigueur.

CLASSIFICATION DES RISQUES SGH

Wash Solution (20X)

DANGER



H360

Peut nuire à la fertilité ou au fœtus.

P201

Se procurer les instructions avant utilisation.

P280

Porter des gants de protection, des vêtements de protection et un équipement de protection des yeux/du visage.

P308+P313

EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : demander un avis médical/consulter un médecin.

Acide borique 0,1 - 0,3%
Borate de sodium décahydraté 0,1 - 0,3%

SDS

La fiche technique santé-sécurité est disponible à l'adresse techdocs.beckmancoulter.com

PRELEVEMENT, PREPARATION, CONSERVATION ET DILUTION DES ECHANTILLONS

Echantillons sériques

- Recueillir le sang dans des tubes secs.
- Séparer le sérum par centrifugation.
- Les échantillons sériques peuvent être conservés à 2-8 °C, si le dosage est réalisé dans les 24 heures. Pour des périodes plus longues, les conserver congelés (< -18 °C, 2 mois maximum) ou de préférence à une température inférieure à -80 °C (1 an maximum) aliquotés afin d'éviter les congélations et décongélations successives. La décongélation de l'échantillon peut être réalisée à température ambiante
- Si l'échantillon analysé a une concentration supérieure au calibrateur le plus élevé de la gamme, le diluer dans le tampon phosphate.

Echantillons de fluide amniotique

- Recueillir le fluide amniotique dans des tubes secs sans additifs.
- Les échantillons de fluide amniotique peuvent être conservés à 2-8 °C, si le dosage est réalisé dans les 24 heures. Pour des périodes plus longues, les conserver congelés à une température inférieure à -18 °C (2 mois maximum) ou de préférence à une température inférieure à -80 °C (1 an maximum) aliquotés afin d'éviter les congélations et décongélations successives. La décongélation de l'échantillon peut être réalisée à température ambiante.
- Les échantillons de fluide amniotique sont dilués au 1:100 dans du tampon phosphate avant le dosage.

MATÉRIEL FOURNI

Tous les réactifs de la trousse conservés à 2-8 °C sont stables jusqu'à la date de péremption mentionnée sur la trousse. Dates d'expiration imprimées sur

les étiquettes des flacons, concernent uniquement le stockage à long terme des réactifs par le fabricant, avant l'assemblage de la trousse. Ne pas en tenir compte.

Les conditions de conservation des réactifs après reconstitution ou dilution sont indiquées dans le paragraphe Mode Opérateur.

Trousse pour la détermination de l'AFP, 100 tubes (Cat. # IM1441)

Tubes revêtus d'anticorps monoclonal anti-AFP : 2x 50 tubes (prêts à l'emploi)

Traceur anticorps monoclonal anti-AFP marqué à l'iode 125 : un flacon de 22 mL (prêt à l'emploi).

Le flacon contient en début de lot 320 kBq d'immunoglobuline marquée à l'iode 125 dans un tampon contenant de l'albumine sérique bovine, de l'azide de sodium (<0,1 %) et un colorant.

Calibrateurs AFP : six flacon de 0,5 mL (prêts à l'emploi).

Les flacons de calibrateur contiennent de 0 à environ 400 UI/mL d'AFP en solution dans du sérum bovin contenant de l'azide de sodium (<0,1 %). Les concentrations exactes sont indiquées sur l'étiquette de chaque flacon. Les calibrateurs ont été calibrés par rapport au Standard International Alpha-fetoprotéine Humain 72/225. (1 UI WHO = 1.21 ng AFP)

Sérums de contrôle : 2 flacons (lyophilisés)

Les flacons contiennent de l'AFP en sérum humain, lyophilisée. Les valeurs attendues sont comprises dans la fourchette de concentrations indiquée dans un supplément.

Tampon phosphate : un flacon de 30 mL; prêt à l'emploi.

Le flacon contient du tampon avec de l'albumine sérique bovine.

Solution de lavage (20x) : un flacon de 50 mL

Solution concentrée, à diluer avant usage.

Trousse pour la détermination de l'AFP, 400 tubes (Cat. # IM3285)

Tubes revêtus d'anticorps monoclonal anti-AFP : 8x 50 tubes (prêts à l'emploi).

Traceur anticorps monoclonal anti-AFP marqué à l'iode 125 : quatre flacons de 22 mL (prêts à l'emploi).

Calibrateurs AFP : six flacons de 0,5 mL (prêts à l'emploi).

Sérums de contrôle : 2 flacons (lyophilisés)

Tampon phosphate : quatre flacons de 30 mL ; (prêts à l'emploi)

Solution de lavage (20x) : 2 flacons de 50 mL

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

En plus de l'équipement de laboratoire usuel, il est nécessaire d'utiliser le matériel suivant :

- micropipettes de précision (50 µL).
- pipettes semi-automatiques (150 µL, 200 µL, 2 mL),
- mélangeur de type "Vortex"
- agitateur à mouvement de va-et-vient horizontal ou à plateau oscillant,
- système d'aspiration
- compteur gamma calibré pour l'iode 125

PROCÉDURE

Préparation des réactifs

Equilibrer les réactifs à la température du laboratoire.

Préparation des sérums de contrôle

Le contenu des flacons est reconstitué avec le volume d'eau distillée indiqué sur l'étiquette du flacon. Attendre 10 minutes et agiter doucement en évitant la formation de mousse avant de répartir dans les tubes. Conserver les solutions reconstituées aliquotées à une température inférieure à -18 °C jusqu'à la date de péremption de la trousse.

Préparation de la solution de lavage

Verser le contenu du flacon dans 950 mL d'eau distillée. Homogénéiser. La solution diluée peut être conservée à 2-8 °C jusqu'à la date de péremption de la trousse.

Mode opératoire

Equilibrer les réactifs à la température du laboratoire.

Etape 1 1ère incubation	Etape 2 Lavage
Dans les tubes recouverts d'anticorps distribuer successivement 50 µL de calibrateur ou d'échantillon et 150 µL de tampon phosphate. Agiter. Incuber pendant 15 min à 18-25 °C avec agitation (>280 rpm)	Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube. Ajouter 2 mL de solution de lavage et aspirer soigneusement.

Etape 3 2ème incubation	Etape 4 Lavage et comptage
Distribuer 200 µL de traceur dans tous les tubes. Agiter. Incuber pendant 30 min à 18-25 °C avec agitation à >280 rpm.	Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube (sauf les 2 tubes pour l'activité totale T). Laver les tubes avec 2 mL de solution de lavage et aspirer. Compter les cpm liés (B) et cpm totaux (T) pendant 1 min.

*Ajouter 200 µL de traceur dans 2 tubes supplémentaires pour obtenir les cpm totaux.

RÉSULTATS

Les résultats sont déduits de la courbe standard par interpolation. La courbe sert à déterminer les taux d'AFP des échantillons dosés en même temps que les calibrateurs.

Courbe standard

Les résultats présentés dans cette notice ont été calculés en employant un mode de tracé log-log (mode "spline") avec en ordonnée la radioactivité mesurée (cpm_{cal} - cpm_{cal0}) et en abscisse la concentration en AFP des calibrateurs (UI/mL). L'utilisation d'un autre mode de calcul peut conduire à des résultats légèrement différents.

Activité totale : 107.924 cpm				
Calibrateurs	UI/mL	cpm (n=3)	B/T (%)	cpm _{cal} - cpm _{cal0}
0	0	20	0,02	-
1	3	2 096	1,83	2 076
2	10	6 511	5,68	6 491
3	40	22 881	20,0	22 861
4	150	61 576	53,7	61 556
5	400	94 180	82,2	94 160

(Exemple de courbe standard, ne pas utiliser pour les calculs)

Echantillons

Repérer la valeur cpm_{échant.} - cpm_{cal0} pour chaque échantillon sérique ou fluide amniotique dilué sur l'axe vertical, puis le point correspondant de la courbe standard sur l'axe horizontal et en déduire par lecture la concentration en AFP de l'échantillon en UI/mL. Les concentrations des échantillons dilués doivent être corrigées par le facteur de dilution.

Pour convertir des UI/mL en ng/mL, multiplier les résultats par 1,21.

VALEURS ATTENDUES

Concentrations sériques en AFP normales

Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs normales. Les résultats doivent être interprétés à la lumière du dossier clinique complet du patient, incluant l'historique clinique et les données de tests additionnels et toute autre information appropriée.

Les valeurs suivantes déterminées chez des sujets sains sont données à titre indicatif. Les concentrations en AFP sérique dans le tableau ont été obtenues à partir de 58 hommes sains et de 36 femmes saines n'étant pas enceintes.

	Nombre d'échantillons	Concentration. (UI/mL)	Valeur médiane (UI/mL)
Homme :	58	0,46 - 6,41	3,12
Femme :	36	0,49 - 9,84	1,94

Interprétation de résultats de dépistage prénatal

Les résultats doivent être interprétés à la lumière du dossier clinique complet du patient, incluant l'historique clinique et les données de tests additionnels et toute autre information appropriée.

Les laboratoires doivent établir leurs propres valeurs de référence en accord avec la méthode qu'ils ont choisie pour l'évaluation du risque de syndrome de Down. En dehors de ce contexte, le résultat d'un dosage AFP pris isolément n'a pas de valeur diagnostique par lui-même.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Les bonnes pratiques de laboratoire impliquent que des échantillons de contrôle soient utilisés dans chaque série de dosage pour s'assurer de la qualité des résultats obtenus. Ces échantillons devront être traités de la même façon que les prélèvements à doser et il est recommandé d'en analyser les résultats à l'aide de méthodes statistiques appropriées.

En cas de détérioration de l'emballage ou si les résultats obtenus montrent une perte de performance du produit, veuillez contacter notre service Support Technique. E-mail : imunochem@beckman.com

PERFORMANCES DU DOSAGE

(voir la feuille "APPENDIX" pour plus de détails)

Les données représentatives ne sont fournies qu'à titre d'illustration. Les performances obtenues dans les laboratoires individuels peuvent varier.

Sensibilité

Sensibilité analytique : 0,11 UI/mL

Sensibilité fonctionnelle : 0,2 UI/mL

Spécificité

Les anticorps utilisés dans cette trousse ne présentent pas de réactivités croisées avec l'albumine sérique humaine, la transferrine, les IgG humains, l'hémoglobine ou la bilirubine.

Précision

Intra-essai

Des échantillons ont été dosés 25 fois dans une même série. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 6,9 % pour le sérum et 3,0 % pour le fluide amniotique.

Inter-essais

Des échantillons ont été dosés en doublet dans 10 séries différentes. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 6,3 % pour le sérum et 10,9 % pour le fluide amniotique.

Exactitude

Epreuve de dilutions

Des échantillons de concentration élevée ont été dilués. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 86 % et 111 % pour le sérum et entre 92 % et 112 % pour le fluide amniotique.

Epreuve de surcharge

Des quantités connues d'AFP ont été ajoutées à des échantillons de faible concentration. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 88 % et 108 % pour le sérum et entre 100 % et 119 % pour le fluide amniotique.

Plage de mesure (de la sensibilité analytique au calibrateur le plus élevé) : 0,11 à environ 400 UI/mL.

LIMITES

Le non-respect des recommandations indiquées dans cette notice peut avoir un impact significatif sur les résultats.

Ne pas utiliser de spécimens hémolysés, ictériques ou lipémiques.

Pour les tests employant des anticorps, il existe la possibilité d'une interférence par des anticorps hétérophiles présents dans l'échantillon du patient. Les patients qui ont été régulièrement exposés à des animaux ou qui ont reçu une immunothérapie ou qui ont subi des procédures diagnostiques utilisant des immunoglobulines ou des fragments d'immunoglobulines peuvent produire des anticorps, par exemple des anticorps HAMA (anticorps humains anti-souris), qui interfèrent avec les tests immunologiques.

Ces anticorps qui interfèrent peuvent être la cause de résultats erronés. Evaluer avec précaution les résultats de patients suspectés de posséder ces anticorps.

Effet crochet

L'utilisation d'un protocole en deux temps dans ce dosage permet d'éviter l'effet crochet.

AFP IRMA KIT

REF IM1441, IM3285

IMMUNRADIOMETRISCHER ASSAY FÜR DIE IN-VITRO BESTIMMUNG VON

ALFA-FETOPROTEIN (AFP) IN HUMANEM SERUM ODER FRUCHTWASSER PROBEN

In-vitro-Diagnostikum

PRINZIP

Der immunoradiometrischer Assay für die Bestimmung von AFP basiert auf dem typischen "Sandwichprinzip". In dem Kit werden zwei verschiedene monoklonale Mausantikörper, mit nicht miteinander konkurrierenden Epitopen gegen AFP verwendet. Die Proben, Kontrollen oder Kalibratoren werden in mit monoklonalen Antikörpern beschichteten Röhrchen inkubiert. Nach der Inkubation werden die Röhrchen (nach dem Absaugen der Flüssigkeit) ausgewaschen, und der zweite, ¹²⁵I-markierte, monoklonale Antikörper hinzugefügt. Nach der zweiten Inkubation wird die Flüssigkeit abgesaugt und die gebundene Radioaktivität bestimmt. Unbekannte Probenwerte werden mittels Interpolation aus der Standardkurve bestimmt. Die Konzentration an AFP in den Proben ist direkt proportional zu der Radioaktivität.

Ergebnisse können:

- in Onkologie benutzt werden.
- zusammen mit den bestimmten Konzentrationen an AFP können in Verbindung mit unkonjugiertem Estriol hCG-Konzentrationen zur Risikoermittlung für das Auftreten eines Down-Syndroms (Trisomie 21) verwendet werden. Diese Vorgehensweise wurde auf Basis einer multivariaten Gauss'schen Verteilungsanalyse verifiziert (Wald et al.: Brit Med J 297, 883 – 887; 1988). Es wird dringend empfohlen, eine validierte (CE zertifizierte) Software zu verwenden, die speziell zur Risiko-Ermittlung für eine Trisomie 21 vorgesehen ist, z.B. die alpha™ Software (Alpha ist eine Handelsmarke von Logical Medical Systems).

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Allgemeinhinweise:

- Reagenzien aus Kits von verschiedenen Produktionsserien sollten nicht miteinander vermischt werden.
- Die Kalibrator- und Kontrollfläschchen sollten so kurz wie möglich geöffnet werden, um eine übermäßige Verdunstung zu vermeiden.
- Eine Standardkurve ist für jeden Assay notwendig.
- Der Assay sollte in Doppelbestimmung durchgeführt werden.
- Jedes Röhrchen darf nur einmal verwendet werden.

Grundregeln der Handhabung von Radioaktivität

Annahme, Besitz und Verwendung, Lagerung, Transport und Beseitigung unterliegen den Vorschriften der Atomenergie- bzw. der jeweiligen staatlichen Behörde. Die Einhaltung der Grundregeln beim Umgang mit Radioaktivität sollte eine ausreichende Sicherheit gewährleisten:

- In Räumen, in denen mit radioaktiven Materialien gearbeitet wird, sollte Essen, Trinken, Rauchen und das Auftragen von Kosmetika vermieden werden.
- Keine Mundpipette verwenden.
- Direkter Kontakt mit radioaktiven Materialien sollte durch Tragen entsprechender Schutzkleidung (Laborkittel, Handschuhe) vermieden werden.
- Das Arbeiten mit radioaktiven Stoffen muß in dafür speziell gekennzeichneten Bereichen, die vom normalen Laborbetrieb abgetrennt sind, erfolgen.
- Radioaktive Materialien sollten in einem speziell gekennzeichneten Bereich gelagert werden.
- Ein Register der Eingänge und Lagerung aller radioaktiven Produkte sollte ständig aktualisiert werden.
- Kontaminierte Labor- und Glasgeräte sollten isoliert werden, um eine Kreuzkontamination von verschiedenen Radioisotopen zu verhindern.
- Kontaminationen des Arbeitsplatzes müssen unverzüglich sorgfältig nach den üblichen Verfahren entfernt werden.

- Radioaktiver Abfall muss entsprechend den Richtlinien jedes Einsatzortes entsorgt werden.

Natriumazid

Zur Vermeidung mikrobieller Kontamination enthalten einige Reagenzien Natriumazid. Natriumazid kann mit Blei, Kupfer oder Messing zu explosiven Metallaziden reagieren. Um dies zu vermeiden, sollte bei einer Entsorgung über Rohrleitungen mit viel Wasser nachgespült werden.

Bestandteile menschlichen Ursprungs

Bestandteile menschlichen Ursprungs, die für diesen Kit verwendet wurden, sind auf HIV-1 und HIV-2 Antikörper, HCV Antikörper und Hepatitis B surface Antigen (HbsAg) getestet und als nicht reaktiv befunden wurden. Es ist so vorzugehen, als ob eine tatsächliche Ansteckungsgefahr bestünde. Keine Testmethode kann völlige Sicherheit bieten. Der Kit sollte mit allen notwendigen Sicherheitsvorkehrungen behandelt werden.

Alle Serumproben sollten als potentielle Überträger von Hepatitis und AIDS behandelt und Abfälle entsprechend den jeweiligen Länderbestimmungen entsorgt werden.

GHS-GEFAHRSTOFFKLASSIFIZIERUNG

Wash Solution (20X) GEFAHR



H360

Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen.

P201

Vor dem Gebrauch besondere Anweisungen einholen.

P280

Schutzhandschuhe, Schutzkleidung und Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

P308+P313

BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
Borsäure 0,1 - 0,3%
di-Natriumtetraborat-Decahydrat 0,1 - 0,3%

SDS

Das Sicherheitsdatenblatt ist auf techdocs.beckmancoulter.com verfügbar.

PROBENENTNAHME, -BEHANDLUNG, -LAGERUNG UND VERDÜNNUNG

Serumproben

- Sammeln Sie das Blut in Röhrchen ohne Zusätze.
- Trennen Sie das Serum durch Zentrifugation ab.
- Serumproben können bei 2-8 °C gelagert werden, wenn der Assay innerhalb von 24h durchgeführt wird. Für eine längere Lagerung sollten die Proben aliquotiert bei < -18 °C (maximum 2 Monaten) oder bei < -80 °C (maximum 1 Jahr) eingefroren werden, um wiederholtes Auftauen und Einfrieren zu vermeiden. Auftauen sollte bei Raumtemperatur stattfinden.
- Wenn die Proben Konzentrationen über dem höchsten Kalibratorwert haben, müssen sie mit Phosphatpuffer verdünnt werden.

Fruchtwasserproben

- Sammeln Sie das Fruchtwasser in trockenen Röhrchen ohne Zusätze.
- Fruchtwasserproben müssen bei 2-8 °C gelagert werden, wenn der Assay innerhalb von 24h durchgeführt wird. Für eine längere Lagerung sollten die Proben aliquotiert bei < -18 °C (maximum 2 Monaten) oder bei < -80 °C (maximum 1 Jahr) eingefroren werden, um wiederholtes Auftauen und Einfrieren zu vermeiden. Auftauen sollte bei Raumtemperatur stattfinden.
- Fruchtwasserproben sollten vor ihrer Bestimmung 1:100 mit Phosphatpuffer verdünnt werden.

MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Die Reagenzien sind verwendbar bis zum Verfallsdatum, wenn sie bei 2-8 °C gelagert werden. Auf die Fläschchen gedruckte Verfallsdaten betreffen nur die Langzeitlagerung beim Hersteller, vor der Zusammensetzung des Kits. Bitte nicht beachten.

Lagerungsbedingungen für Reagenzien nach der Rekonstitution oder Verdünnung werden im Abschnitt „Verfahren“ angegeben.

Kit für die Bestimmung von AFP, 100 Röhrchen (Kat. # IM1441)

Röhrchen mit anti-AFP monoklonalen Antikörpern beschichtet: 2 x 50 Röhrchen (gebrauchsfertig)

¹²⁵I-markierte monoklonale anti-AFP-Tracer Lösung: eine 22 mL Flasche (gebrauchsfertig)

Die Flasche enthält 320 kBq (am Tag der Herstellung) des ¹²⁵I-markierten Immunglobulins in Puffer mit bovinem Serum Albumin, Natriumazid (<0,1%) und einem Farbstoff.

AFP Kalibratoren: sechs 0,5 mL Fläschchen (gebrauchsfertig)

Die Kalibratorflaschen enthalten zwischen 0 und ungefähr 400 IU/mL AFP in bovinem Serum und Natriumazid (<0,1 %). Die genauen Konzentrationen sind auf jedem Fläschchen angegeben. Die Kalibratoren wurden gegen die internationale Standard-Präparation von Alpha-fetoprotein, Human 72/225. (1 IU WHO = 1.21 ng AFP).

Serumkontrolle: 2 Fläschchen (lyophilisiert)

Die Fläschchen enthalten AFP lyophilisiert in humanem Serum. Die erwarteten Werte liegen im Konzentrationsbereich, der in der Packungsbeilage angegeben ist.

Phosphatpuffer: eine 30 mL Flasche (gebrauchsfertig)

Die Flasche enthält Puffer mit bovinem Serum Albumin.

Waschlösung (20x): eine Flasche 50 mL

Die konzentrierte Lösung muss vor Gebrauch verdünnt werden.

Kit für die Bestimmung von AFP, 400 Röhrchen (Kat. # IM3285)

Röhrchen mit anti-AFP monoklonalen Antikörpern beschichtet: 8x 50 Röhrchen (gebrauchsfertig)

¹²⁵I-markierte monoklonale Anti-AFP Tracer-Antikörpern: vier 22 mL Flaschen (gebrauchsfertig)

AFP Kalibratoren: sechs 0,5 mL Fläschchen (gebrauchsfertig)

Serumkontrolle: 2 Fläschchen (lyophilisiert)

Phosphatpuffer: vier 30 mL Flaschen (gebrauchsfertig)

Waschlösung (20x): zwei 50 mL Flaschen

ERFORDERLICHE, JEDOCH NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Zusätzlich zu der Standardlaborausstattung, werden die folgenden Materialien benötigt:

- Präzisionspipette (50 µL)
- halbautomatische Pipetten (150 µL, 200 µL, 2 mL).
- Vortex-Mixer
- Horizontal-, oder Orbitalschüttler.
- Ansaugsystem
- Gamma-Counter für ¹²⁵I

DURCHFÜHRUNG

Präparation der Reagenzien

Die Reagenzien sollten Raumtemperatur haben.

Wiederaufnahme der Serumkontrollen

Der Inhalt der Fläschchen wird mit dem auf dem Etikett angegebenen Volumen an destilliertem Wasser aufgelöst. Nach 10 Minuten Wartezeit wird vor der Verwendung unter Vermeidung jeglichen Schäumens vorsichtig gemischt. Die rekonstituierten Lösungen können aliquotiert bei < -18 °C bis zum Verfallsdatum des Kits eingefroren werden.

Präparation der Waschlösung

Den Inhalt der Flasche in 950 mL destilliertes Wasser schütten und homogenisieren. Die verdünnte Lösung ist bei 2-8 °C bis zum Verfallsdatum haltbar.

Testdurchführung

Die Reagenzien sollten Raumtemperatur haben.

Schritt 1 1. Inkubation	Schritt 2 Waschen
Zugabe zu den beschichteten Röhrchen (in dieser Reihenfolge): 50 µL Kalibrator oder Proben und 150 µL Phosphatpuffer. Mischen. Für 15 Minuten bei 18-25 °C schütteln (>280 rpm).	Den Inhalt der Röhrchen vorsichtig absaugen. 2 mL Waschlösung geben und vorsichtig absaugen.

Schritt 3 2. Inkubation	Schritt 4 Waschen und Messen
Geben Sie 200 µL J125-Tracer r in allen Röhrchen. Mischen. Für 30 Minuten bei 18-25 °C schütteln (>280 rpm).	Den Inhalt der Röhrchen vorsichtig absaugen (außer Totalaktivität T). Die Röhrchen mit 2 mL Waschlösung waschen und absaugen. Gebundene cpm (B) und Totalaktivität (T) bestimmen (1 min)

*Zusätzlich zwei Röhrchen mit 200 µL Tracer zur Bestimmung der Totalaktivität bestücken.

ERGEBNISSE

Die Ergebnisse werden aus der Standardkurve mittels Interpolation ermittelt. Die Kurve dient der Bestimmung der AFP-Konzentration in den Proben dienen, die zur gleichen Zeit wie die Standardkurve gemessen wurden.

Standardkurve

Die Ergebnisse in der Packungsbeilage wurden errechnet mittels einer log-log Kurvenanpassung ("spline" mode) aus der bestimmten Radioaktivität ($cpm_{Kal} - cpm_{Kal0}$) auf der y-Achse und den AFP-Konzentrationen der Kalibratoren auf der x-Achse (IU/mL). Andere Datenreduktions-Methoden können zu leicht abweichenden Ergebnissen führen.

Totalaktivität: 107.924 cpm				
Kalibratoren	IU/mL	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{Kal} - cpm_{Kal0}$
0	0	20	0,02	-
1	3	2 096	1,83	2 076
2	10	6 511	5,68	6 491
3	40	22 881	20,0	22 861
4	150	61 576	53,7	61 556
5	400	94 180	82,2	94 160

(Beispiel einer Standardkurve, nicht zur Berechnung benutzen)

Proben

Für jede Probe wird der ($cpm_{probe} - cpm_{Kal0}$)-Wert auf der y-Achse bestimmt und die entsprechende AFP-Konzentration auf der x-Achse in IU/mL abgelesen. Die erhaltenen Konzentrationen müssen, wenn notwendig, mit dem Verdünnungsfaktor korrigiert werden

Um die Werte von IU/mL in ng/mL umzurechnen, müssen sie mit 1,21 multipliziert werden.

ERWARTETE WERTE

Normale AFP-Serumkonzentrationen

Jedes Labor sollte seinen eigenen Normalbereich festlegen. Die erhaltenen Ergebnisse sind vor dem Hintergrund der gesamten klinischen Situation des Patienten unter Berücksichtigung seiner klinischen Vorgeschichte, den Ergebnissen anderer Testergebnisse sowie weiteren vorliegenden Informationen zu interpretieren.

Die hier angegebenen Werte, die in Gruppen von gesunden Personen festgelegt wurden, dienen nur als Richtlinien. Die in der Table angegebenen AFP-Serumkonzentrationen wurden von 58 gesunden männlichen und 36 gesunden, nicht schwangeren weiblichen Probanden ermittelt:

	Anzahl der Proben	Konz. Bereich (IU/mL)	Mediane (IU/mL)
Männlich	58	0,46 - 6,41	3,12
Weiblich	36	0,49 - 9,84	1,94

Auswertung

Die erhaltenen Ergebnisse sind vor dem Hintergrund der gesamten klinischen Situation des Patienten unter Berücksichtigung seiner klinischen

Vorgeschichte, den Ergebnissen anderer Testergebnisse sowie weiteren vorliegenden Informationen zu interpretieren.

Laboratorien sollten ihre eigenen Referenzwerte unter Berücksichtigung der Auswertemethode, die das jeweilige Labor zur Risikoermittlung für das Auftreten eines Down-Syndroms verwendet, ermitteln. Aus diesem Grund besitzen in diesem Zusammenhang isolierte Ergebnisse des AFP allein keinerlei diagnostische Aussagekraft.

QUALITÄTSKONTROLLE

Zur Einhaltung der Laborgrundregeln sollten regelmäßig Kontrollproben benutzt werden, um die Qualität der Ergebnisse zu sichern. Diese Proben müssen in genau derselben Weise wie die Assay Proben getestet werden, und die Auswertung der Ergebnisse sollte mit angebrachten statistischen Methoden stattfinden.

Im Falle von Verpackungsschäden oder einer Leistungsbeeinträchtigung des Produkts, kontaktieren Sie bitte Ihren lokalen Vertreter oder benutzen Sie die folgende e-mail: imunochem@beckman.com

SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

(für mehr Details, siehe die Beilage "APPENDIX")

Repräsentative Daten dienen nur der Veranschaulichung. Die in einzelnen Labors erzielten Leistungen können anders ausfallen.

Empfindlichkeit

Analytische Sensitivität: 0,11 IU/mL.

Funktionelle Sensitivität: 0,2 IU/mL.

Spezifität

Für die in diesem Immunoassay verwendeten Antikörper wurden keine Kreuzreaktionen gemessen gegen humanes Serum, gegen Albumine, Transferrine, humanes IgG, Hämoglobine, oder Bilirubine.

Präzision

Intra-Assay

Proben aus derselben Serie wurden 25mal getestet. Der Variationskoeffizient war jeweils kleiner oder gleich 6,9 % für Serum und 3,0 % für Fruchtwasser.

Inter-assay

Proben aus 10 verschiedenen Serien wurden in Doppelbestimmungen gemessen. Der Variationskoeffizient war jeweils kleiner oder gleich 6,3 % für Serum und 10,9 % für Fruchtwasser.

Genauigkeit

Verdünnungstest

Hoch konzentrierte Proben wurden verdünnt und getestet. Die Wiederfindung lag zwischen 86 % und 111 % für Serum, und für Fruchtwasser zwischen 92 % und 112 %.

Wiederfindungstest

Niedrig konzentrierte Proben wurden mit definierten AFP-Mengen versetzt. Die Wiederfindung lag sich zwischen 88 % und 108 % für Serum, und für Fruchtwasser zwischen 100 % und 119 %.

Meßbereich (von der analytischen Sensitivität bis zum höchsten Kalibrator): 0,11 bis ungefähr 400 IU/mL.

EINSCHRÄNKUNGEN

Die Nichtbeachtung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage kann die Ergebnisse signifikant beeinflussen.

Es dürfen keine hämolytischen, ikterischen oder lipämischen Proben verwendet werden.

Bei Assays, die Antikörper nutzen, besteht die Möglichkeit einer Störung durch in der Patientenprobe enthaltene heterophile Antikörper. Patienten, die regelmäßig mit Tieren in Kontakt kommen oder sich immuntherapeutischen oder -diagnostischen Verfahren unter Einsatz von Immunglobulinen oder Immunglobulin-Fragmenten unterzogen haben, können Antikörper bilden (wie bspw. HAMA), welche die Immunoassays stören.

Derartige störende Antikörper können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Die Ergebnisse von Patienten, bei denen das Vorliegen derartiger Antikörper zu vermuten ist, sind sorgfältig zu untersuchen.

Hook effekt

Bei dem zwei-Schritt-Protokoll konnte kein Hook-Effekt beobachtet werden.

AFP IRMA KIT

REF IM1441, IM3285

KIT IMMUNORADIOMETRICO PER LA DETERMINAZIONE IN VITRO DELL'AFP

IN SIERO UMANO O IN LIQUIDO AMNIOTICO
Per uso diagnostico *in vitro*

PRINCIPIO

Il dosaggio dell'AFP è un metodo immunoradiometrico tipo "sandwich" a due step. Nel kit sono utilizzati due anticorpi monoclonali di topo, diretti contro due differenti epitopi dell'AFP. Campioni e calibratori vengono dapprima incubati in provette sensibilizzate col primo anticorpo monoclonale. Al termine dell'incubazione le provette vengono aspirate e lavate; la presenza di AFP nei campioni viene rivelata con l'aggiunta dell'anticorpo monoclonale anti AFP, marcato con ¹²⁵I. Al termine della seconda incubazione le provette vengono aspirate e lavate per allontanare l'anticorpo marcato non legato. La concentrazione d'AFP nei campioni viene ricavata per interpolazione dalla curva standard. La radioattività legata alle provette è direttamente proporzionale alla concentrazione di AFP in campioni e calibratori.

I dati possono essere utilizzati:

- in oncologia,
- in associazione con altri dati di hCG e estriolo non conjugato per la valutazione del rischio della sindrome di Down (trisomia 21). Questo metodo è stato convalidato in base all'analisi delle distribuzioni multivariate Gaussiane (Wald et al.: Brit Med J 297, 883 – 887; 1988). E' particolarmente raccomandato l'utilizzo di software validati (con marchio CE) specificamente designati per la valutazione del rischio di trisomia 21, ad esempio il software alphaTM (alpha e' il marchio di fabbrica della Logical Medical Systems).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Considerazioni generali:

- Non utilizzare reattivi di lotti diversi.
- Aprire i flaconi dei calibratori e controlli nel più breve tempo possibile per evitarne l'eccessiva evaporazione.
- Inserire la curva standard in ogni esperimento.
- Eseguire il dosaggio in duplicato.
- Ogni tubo va usato solo una volta.

Norme di radioprotezione

L'acquisto, la detenzione, l'utilizzo e il trasporto di materiale radioattivo sono soggetti a regolamentazione locale. Lo scrupoloso rispetto delle norme per l'uso di sostanze radioattive fornisce una protezione adeguata agli utilizzatori.

- Nei luoghi dove si usano sostanze radioattive non è consentito consumare cibi o bevande, fumare o usare cosmetici.
- Non pipettare materiale radioattivo con pipette a bocca.
- Usare sempre guanti e camici da laboratorio quando si manipola materiale radioattivo.
- Tutte le manipolazioni di sostanze radioattive devono essere fatte in posti appropriati, lontano da corridoi ed altri posti affollati.
- Le sostanze radioattive devono essere conservate in propri contenitori in appositi locali che devono essere interdetti alle persone non autorizzate.
- Deve essere tenuto un registro di carico e scarico del materiale radioattivo.
- Il materiale di laboratorio e la vetreria deve essere dedicato all'uso di isotopi specifici per evitare cross-contaminazioni.
- In caso di contaminazione o dispersione di materiale radioattivo, fare riferimento alle norme locali di radioprotezione.
- I rifiuti radioattivi devono essere smaltiti secondo le norme locali di radioprotezione.

Sodio azide

Alcuni reattivi contengono sodio azide come conservante, che può reagire con piombo, rame o ottone presenti nelle tubature di scarico per formare metallo-azidi esplosivi. Smaltire questi reattivi facendo scorrere abbondante acqua negli scarichi.

Materiale di origine umana

PI-IM1441-3285-04

Alcuni reattivi presenti nel kit sono di origine umana e si sono rivelati negativi per anticorpi anti HIV1 e HIV2, anticorpi anti HCV e antigene di superficie dell'epatite B (HbsAg). Questi reattivi devono essere manipolati come in grado di trasmettere malattie infettive. Non sono disponibili metodi in grado di offrire la certezza assoluta che questi o altri agenti infettivi siano assenti. Manipolare questi reattivi come potenziali fonti di infezioni.

Manipolare tutti i campioni di sangue come potenziali fonti di infezioni. (Ad es. epatite o AIDS). I rifiuti devono essere smaltiti secondo le disposizioni legislative e la regolamentazione vigente in ciascun Paese.

CLASSIFICAZIONE PERICOLI GHS

Wash Solution (20X)	PERICOLO	
H360		Può nuocere alla fertilità o al feto.
P201		Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.
P280		Indossare guanti/indumenti protettivi e proteggere gli occhi/il viso.
P308+P313		IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico. Acido bórico 0,1 - 0,3% Decaidrato borato di sodio 0,1 - 0,3%

SDS

La scheda tecnica sulla sicurezza è disponibile su techdocs.beckmancoulter.com

RACCOLTA, MANIPOLAZIONE, DILUIZIONE E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Campioni di siero

- Raccogliere i campioni di siero in provette senza anticoagulante.
- Separare per centrifugazione il siero dalla parte corpuscolata.
- I campioni possono essere conservati fino a 24 ore a 2-8 °C o, suddivisi in aliquote, a -18 °C fino a due mesi o a -80 °C fino ad un anno. Evitare ripetuti cicli di congelamento – scongelamento dei campioni. Lo scongelamento deve avvenire a temperatura ambiente.
- Diluire con il tampone fosfato i campioni con concentrazione superiore a quella del calibratore più elevato.

Campioni di liquido amniotico

- Raccogliere i campioni di liquido amniotico in provette senza anticoagulante.
- I campioni possono essere conservati fino a 24 ore a 2-8 °C o, suddivisi in aliquote, a -18 °C fino a due mesi o a -80 °C fino ad un anno. Evitare ripetuti cicli di congelamento – scongelamento dei campioni. Lo scongelamento deve avvenire a temperatura ambiente.
- Diluire al 1:100 in tampone fosfato i campioni di liquido amniotico prima di eseguire il dosaggio.

MATERIALI FORNITI

I reattivi, conservati a 2-8 °C, sono stabili fino alla data di scadenza riportata sul kit. Le date di scadenza riportate sulle etichette di ciascun flacone si riferiscono alla conservazione dei reattivi stabilita in produzione, prima del loro inserimento nel kit.

Le modalità di conservazione dei reagenti dopo la ricostituzione o la diluizione sono riportate nel paragrafo Procedura.

Kit per la determinazione dell'AFP, 100 provette (Cat. # IM1441)

Provette sensibilizzate con anticorpo monoclonale anti-AFP: 2x 50 provette (pronte per l'uso)

Anticorpo monoclonale anti-AFP-¹²⁵I: Un flacone (22 mL) (pronto per l'uso).

Il flacone contiene 320 kBq, alla data di marcatura, di immunoglobuline marcate con ¹²⁵I in tampone con BSA, sodio azide (<0,1%) e un colorante inerte.

Calibratori AFP: Sei flaconi (0,5 mL) (pronti per l'uso).

I flaconi contengono AFP in siero bovino e sodio azide (<0,1%) a concentrazioni comprese tra 0 e circa 400 IU/mL. L'esatta concentrazione degli calibratori è riportata sull'etichetta di ciascun flacone. I calibratori sono calibrati contro lo standard internazionale Alfa-fetoproteina umana 72/225. (1 IU WHO = 1.21 ng AFP).

Controllo: Due flaconi (liofilizzati)

I flaconi contengono AFP liofilizzata in siero umano. L'intervallo dei valori attesi è indicato sul foglio del controllo di qualità.

Tampone fosfato: Un flacone (30 mL) (pronto per l'uso).

Il flacone contiene tampone fosfato BSA.

Soluzione di lavaggio (20x): Un flacone 50 mL

Soluzione concentrata da diluire prima dell'uso.

Kit per la determinazione dell'AFP, 400 provette (Cat. # IM3285)

Provette sensibilizzate con anticorpo monoclonale anti-AFP: 8x 50 provette (pronte per l'uso).

Anticorpo monoclonale anti-AFP-¹²⁵I: Quattro flaconi (22 mL) (pronti per l'uso).

Calibratori AFP: Sei flaconi (0,5 mL) (pronti per l'uso).

Controllo: Due flaconi (liofilizzati)

Tampone fosfato: Quattro flaconi (30 mL) (pronti per l'uso)

Soluzione di lavaggio (20x): Due flaconi 50 mL

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Oltre alla normale attrezzatura da laboratorio, è richiesto il materiale seguente:

- micropipette di precisione (50 µL).
- pipette semi-automatiche (150 µL, 200 µL, 2 mL).
- agitatore di tipo "Vortex"
- agitatore oscillante per provette.
- sistema di aspirazione
- Contatore gamma programmato per leggere ¹²⁵I

PROCEDURA

Preparazione dei reattivi

Portare i reattivi a temperatura ambiente.

Ricostituzione dei sieri di controllo

Ricostituire il contenuto dei flaconi con il volume di acqua distillata riportato sull'etichetta di ciascun flacone. Lasciar riposare per almeno 10 minuti e controllare la completa dissoluzione del liofilizzato invertendo più volte i flaconi. I controlli ricostituiti sono stabili a temperature inferiori ai -18 °C fino alla data di scadenza del kit.

Preparazione della soluzione di lavaggio

Diluire il contenuto del flacone con 950 mL e agitare con cura. La soluzione diluita è stabile a 2-8 °C fine alla scadenza del kit.

Schema del dosaggio

Portare i reattivi a temperatura ambiente.

Fase 1 1a incubazione	Fase 2 Lavaggio
<p>Aggiungere in successione alle provette sensibilizzate: 50 µL di calibratori o campioni e</p> <p>150 µL di tampone fosfato. Mescolare.</p> <p>Incubare 15 min a 18-25 °C in agitazione (>280 rpm).</p>	<p>Aspirare con cura il contenuto delle provette.</p> <p>Aggiungere 2 mL di soluzione di lavaggio ed aspirare con cura.</p>

Fase 3 2a incubazione	Fase 4 Lavaggio e conteggio
<p>Aggiungere 200 µL di marcato In tutte le provette.</p> <p>Mescolare.</p> <p>Incubare 30 min a 18-25 °C in agitazione (>280 rpm).</p>	<p>Aspirare con cura il contenuto delle provette (eccetto le due provette per l'attività totale T).</p> <p>Lavare le provette con 2 mL di soluzione di lavaggio ed aspirare.</p> <p>Contare la radioattività legata (B) e l'attività totale (T) per 1 min.</p>

*Aggiungere 200 µL di marcato a due provette non sensibilizzate per la determinazione dell'attività totale.

RISULTATI

Le concentrazioni di AFP in campioni e controlli vengono calcolate per interpolazione sulla curva standard. Campioni e controlli devono essere dosati insieme agli calibratore.

Curva standard

I risultati contenuti nelle istruzioni sono stati calcolati usando l'interpolazione log-log (modo "spline"), con la radioattività misurata ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) sull'asse verticale (asse delle ordinate) e le concentrazioni d'AFP dei calibratori (IU/mL) sull'asse orizzontale (asse delle ascisse). Altri metodi d'interpolazione dati possono dare risultati leggermente differenti.

Attività totale: 107.924 cpm				
Calibratori	IU/mL	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{cal} - cpm_{cal0}$
0	0	20	0,02	-
1	3	2.096	1,83	2.076
2	10	6.511	5,68	6.491
3	40	22.881	20,0	22.861
4	150	61.576	53,7	61.556
5	400	94.180	82,2	94.160

(Esempio di curva standard. Non usare per calcolare il valore dei propri campioni)

Campioni

Calcolare ($cpm_{campioni} - cpm_{cal0}$) per ogni campione di siero o di liquido amniotico diluito, riportarlo sull'asse delle ordinate e leggere le concentrazioni di AFP in IU/mL sull'asse delle ascisse. Moltiplicare il valore ottenuto nei campioni diluiti per il rispettivo fattore di diluizione.

Per convertire IU/mL in ng/mL, moltiplicare i risultati per 1,21.

VALORI ATTESI

Valori normali nel siero

Ogni laboratorio deve stabilire i propri limiti di riferimento. I risultati devono essere valutati alla luce dei dati clinici del paziente ivi inclusa la sua storia clinica, risultati d'altri test e altre informazioni correlate.

Le concentrazioni di AFP nel siero riportate nella tabella sono state ottenute in soggetti caratterizzati clinicamente, 58 uomini e 36 donne non in gravidanza.

	Numero di campioni	Concentrazione (IU/mL)	Valore medio (IU/mL)
Uomini	58	0,46 - 6,41	3,12
Donne	36	0,49 - 9,84	1,94

Interpretazione dei risultati per lo screening prenatale

I risultati devono essere interpretati in base alla valutazione clinica complessiva della paziente, che comprende la storia clinica, i dati ottenuti con altri test diagnostici o strumentali ed altre informazioni appropriate.

Si raccomanda ad ogni laboratorio di stabilire i propri valori di riferimento nella valutazione del rischio di sindrome di Down (trisomia 21). Preso da solo, il risultato del dosaggio d'AFP non ha alcun valore diagnostico.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Si consiglia ad ogni laboratorio di dosare regolarmente sieri di controllo per verificare la qualità dei risultati ottenuti. Questi campioni devono essere manipolati esattamente come i campioni in esame; i risultati devono essere analizzati con metodi statistici appropriati.

In caso il kit fosse danneggiato o i dati ottenuti mostrino un'alterazione della performance, si prega di contattare il distributore locale o di scrivere al indirizzo e-mail seguente: imunochem@beckman.com

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

(Vedi ulteriori dati riportati in « Appendice »)

Vengono forniti dati rappresentativi a mero scopo illustrativo. I risultati possono variare da laboratorio a laboratorio.

Sensibilità

Sensibilità analitica: 0,11 IU/mL

Sensibilità funzionale: 0,2 IU/mL

Specificità

Non sono state trovate cross-reazioni con BSA, transferrina, IgG umano, emoglobina o bilirubina.

Precisione

Intra-saggio

Alcuni campioni sono stati dosati 25 volte in uno stesso esperimento. E' stato trovato un coefficiente di variazione del 6,9% o inferiore il siero e 3,0% o inferiore per fluido amniotico.

Inter-saggio

Alcuni campioni sono stati analizzati in duplicato in 10 esperimenti differenti. E' stato trovato un coefficiente di variazione del 6,3% o inferiore per il siero e 10,9% o inferiore per il fluido amniotico.

Accuratezza

Test di diluizione

Alcuni campioni ad alta concentrazione di AFP sono stati diluiti con il tampone fosfato. Il recupero è risultato essere compreso tra 86% e 111% per il siero e tra 92% e 112% per il fluido amniotico.

Test di recupero

Ad alcuni campioni a bassa concentrazione di AFP sono state aggiunte quantità note di AFP. Il recupero è risultato essere compreso tra 88% e 108% per il siero e tra 100% e 119% per il fluido amniotico.

Campo di misura (è compreso tra la concentrazione della sensibilità analitica alla concentrazione del calibratore più elevato): 0,11 e circa 400 IU/mL.

LIMITAZIONI

Rispettare accuratamente le istruzioni d'uso per evitare risultati aberranti.

Non usare campioni emolizzati, itterici o lipemici.

Nei test anticorpali, esiste la possibilità di interferenza degli anticorpi eterofili presenti nei campioni dei pazienti. I pazienti regolarmente a contatto con animali o sottoposti a immunoterapia o a procedure diagnostiche a base di immunoglobuline o frammenti di immunoglobuline possono produrre anticorpi, p.e. HAMA, che interferiscono con gli immunodosaggi.

Tali anticorpi interferenti possono portare a risultati errati. Valutare attentamente i risultati di pazienti che potrebbero presentare questi anticorpi.

Effetto hook

Non c'è alcuno effetto hook in questo dosaggio, poiché si usa una metodica a due step.

AFP IRMA KIT

REF IM1441, IM3285

ENSAYO INMUNORADIOMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN IN VITRO DE LA AFP

EN SUERO HUMANO O FLUIDO AMNIÓTICO Para uso en diagnóstico *in vitro*

PRINCIPIO

El ensayo del AFP se basa en la técnica de tipo "sandwich" en dos pasos en el cuál son utilizados dos anticuerpos monoclonales de ratón, dirigidos contra dos epítomos diferentes de la molécula. Las muestras o los calibradores se incuban primero en tubos recubiertos del primer anticuerpo monoclonal. El contenido de los tubos es aspirado y la presencia de AFP en la muestra es revelada mediante una incubación con un segundo anticuerpo monoclonal marcado con I^{125} . El contenido de los tubos se aspira y la radioactividad enlazada se mide en un contador gamma. La concentración de AFP en las muestras es determinada por interpolación con la ayuda de la curva estándar. La concentración de AFP en las muestras es directamente proporcional a la radioactividad.

Los resultados pueden ser utilizados:

- En oncología,
- junto con los resultados hCG y concentraciones de estril no conjugado en la evaluación del riesgo del síndrome de Down (trisomía 21). Tal acercamiento se ha verificado en la base del análisis multivariante de la distribución gaussiana (Wald et al.: Brit Med J 297, 883 – 887; 1988). Se recomienda muy especialmente el uso del programa de validación (marcaje CE) específicamente indicado para evaluar el riesgo de la trisomía del par 21, como por ej. el programa Alpha TM (alpha es una marca registrada de Logical Medical Systems).

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Precauciones generales

- No mezclar los reactivos de lotes diferentes.
- Los viales de los calibradores y controles deben ser abiertos durante el menor tiempo posible, para así evitar evaporaciones excesivas.
- Incluir una curva estandar en cada ensayo.
- Se recomienda realizar el ensayo por duplicado.
- Cada tubo debe estar utilizado solamente una vez.

Reglas básicas de seguridad radiológica

La compra, posesión, uso y transferencia de material radiactivo están sujetas a las disposiciones legales del país en el que se utiliza. El cumplimiento de las normas básicas de seguridad radiológica proporciona protección adecuada.

- No se debe comer, beber, fumar o aplicarse cosméticos en presencia de materiales radiactivos.
- No pipetear las soluciones radiactivas con la boca.
- Evitar cualquier contacto con materiales radiactivos mediante el uso de guantes y bata de laboratorio.
- Toda manipulación de material radiactivo debe realizarse en el lugar adecuado, alejado de corredores y espacios ocupados.
- Los materiales radiactivos deben almacenarse en el contenedor aprobado en una zona especializada.
- Se debe llevar y conservar actualizado un registro de las entradas y almacenamiento de todos los productos radiactivos.
- El equipo y material de vidrio de laboratorio que son objeto de contaminación se deben separar para evitar la contaminación con otros radioisótopos.
- Cada caso de contaminación radiactiva, o de pérdida de materiales radiactivos se debe resolver de acuerdo con los procedimientos establecidos.
- El desecho radiactivo debe manipularse de acuerdo a las reglas establecidas por el país donde se utiliza.

Azida de sodio

Algunos reactivos contienen azida de sodio como conservante. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo, el cobre y el bronce para formar azidas


metálicas explosivas. Deseche los reactivos a través del sistema de drenaje mediante lavado con grandes cantidades de agua.

Material de origen humano

Los reactivos de este equipo son de origen humano y fueron negativos a las pruebas de HIV 1, de HIV 2; de HCV, así como de hepatitis B (Hbs Ag). Sin embargo, deben manejarse como si fueran capaces de transmitir enfermedad. Ninguna prueba conocida puede ofrecer la seguridad completa de la ausencia de agentes virulentos. Maneje estos reactivos con todas las precauciones necesarias.

Todas las muestras de suero deben ser manipuladas como si fueran susceptibles de contener virus como la hepatitis o el sida. Los desperdicios deben eliminarse según los reglamentos naticionales actuales.

CLASIFICACIÓN DE MATERIAL PELIGROSO SEGÚN EL SGA

Wash Solution (20X)	PELIGRO	
		
H360		Puede perjudicar a la fertilidad o dañar al feto.
P201		Procurarse las instrucciones antes del uso.
P280		Use guantes, ropa y equipo de protección para los ojos y la cara.
P308+P313		EN CASO DE exposición confirmada o supuesta: consultar a un médico. Ácido bórico 0,1 - 0,3% Sodio tetraborato decahidrato 0,1 - 0,3%

SDS

La hoja de datos de seguridad está disponible en techdocs.beckmancoulter.com

RECOLECCIÓN, PROCESAMIENTO, ALMACENAMIENTO Y DILUCION DE LAS MUESTRAS

Muestras séricas

- Recoger la sangre en tubos secos.
- Separar el suero por centrifugación.
- Las muestras séricas pueden ser conservadas a 2-8 °C, si el análisis se realiza en las 24 horas. Para períodos más largos, conservarlas congeladas (<-18 °C, 2 meses máximo) o preferentemente a una temperatura inferior a -80 °C (1 año máximo) alicuotadas con el fin de evitar congelaciones y descongelaciones sucesivas. La descongelación de las muestras debe realizarse a temperatura ambiente.
- Si la muestra analizada tiene concentraciones superior al calibrador más elevado, es necesario diluirla en el tampón fosfato.

Muestras de líquido amniótico

- Recoger el líquido amniótico en tubos secos sin aditivos.
- Las muestras de líquido amniótico pueden ser conservadas a 2-8 °C, si el análisis se realiza en las 24 horas. Para períodos más largos, conservarlas congeladas a una temperatura inferior a -18 °C (2 meses máximo) o preferentemente a una temperatura inferior a -80 °C (1 año máximo) alicuotadas con el fin de evitar congelaciones y descongelaciones sucesivas. La descongelación de las muestras debe realizarse a temperatura ambiente.
- Las muestras de líquido amniótico se diluyen al 1:100 en un tampón de fosfato antes del ensayo.

MATERIALES PROPORCIONADOS

Todos los reactivos del equipo conservados sin abrir a 2-8 °C son estables, hasta la fecha de caducidad mencionada sobre el equipo. Las fechas de caducidad impresas sobre las etiquetas de los frascos, aplicables únicamente para períodos largos de almacenaje de reactivos por el fabricante, antes del ensamblaje. No tener en cuenta.

Las condiciones de almacenamiento de los reactivos después de la reconstitución o dilución se indican en el párrafo Procedimiento.

Equipo para la determinación de l'AFP, 100 tubos (Cat. # IM1441)

Tubos recubiertos de anticuerpo monoclonal anti-AFP: 2x 50 tubos (listos para su uso)

Trazador de anticuerpos monoclonales anti-AFP marcado con I¹²⁵: un frasco de 22 mL (listo para su uso).

El frasco contiene recién fabricado 320 kBq de anticuerpo monoclonal marcado con I¹²⁵ en un tampón que contiene albúmina sérica bovina, azida de sodio (< 0,1 %) y un colorante.

Calibradores AFP: seis frascos de 0,5 mL (listos para su uso).

Los frascos de calibrador contienen desde 0 hasta aproximadamente 400 UI/mL de AFP en suero bovino que contiene azida de sodio (<0,1 %). Las concentraciones exactas se indican sobre la etiqueta de cada frasco. Los calibradores han sido calibrados de acuerdo con el Estándar Internacional Alfa-feto proteína Humana 72/225. (1 UI WHO = 1.21 ng AFP)

Muestras de control: 2 frascos (liofilizados)

Los frascos contienen AFP en suero humano, liofilizada. Los valores esperados se encuentran en el intervalo de concentraciones indicada en un suplemento.

Tampón fosfato: un frasco de 30 mL; listo para su uso.

El frasco contiene un tampón con albúmina sérica bovina.

Solución de lavado (20x): un frasco de 50 mL

La solución concentrada debe diluirse antes de su uso.

Equipo para la determinación de AFP, 400 tubos (Cat. # IM3285)

Tubos recubiertos de anticuerpos monoclonales anti-AFP: 8x 50 tubos (listos para su uso).

Trazador de anticuerpo monoclonal anti-AFP marcado con I¹²⁵: cuatro frascos de 22 mL (listos para su uso).

Calibradores AFP: seis frascos de 0,5 mL (listos para su uso).

Muestras de control: 2 frascos (liofilizados)

Tampón fosfato: cuatro frascos de 30 mL; (listos para su uso)

Solución de lavado (20x): 2 frascos de 50 mL

MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

Además del equipo normal de laboratorio se requiere lo siguiente:

- micropipetas de precisión (50 µL).
- pipeta semi-automática (150 µL, 200 µL, 2 mL).
- agitador de tipo "Vortex"
- agitador con movimiento de vaivén horizontal o con platillo oscilante.
- sistema de aspiración
- Contador gamma calibrado para I125

PROCEDIMIENTO

Preparación de los reactivos

Permita que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente.

Reconstitución de las muestras Controles.

El contenido de los frascos es reconstituido con el volumen de agua destilada indicado sobre la etiqueta del frasco. Esperar 10 minutos y agitar despacio evitando la formación de espuma antes de repartir en los tubos. Conservar las soluciones reconstituidas alicuotadas a una temperatura inferior a -18 °C hasta la fecha de caducidad del equipo.

Preparación de la solución de lavado

Verter el contenido de un frasco en 950 mL de agua destilada y homogeneizar. La solución diluida se puede almacenar entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad del equipo.

Procedimiento

Permita que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente.

Paso 1 1° incubación	Paso 2 Lavado
A los tubos recubiertos agregar sucesivamente: 50 µL de calibrador o de muestra y 150 µL de tampón fosfato. Mezclar. Incubar durante 15 min a 18-25 °C con agitación (>280 rpm).	Aspirar cuidadosamente el contenido de cada tubo. Añadir 2 mL de solución de lavado y aspirar cuidadosamente.

Paso 3 2° incubación	Etapa 4 Lavado y conteo
Distribuir 200 µL de trazador en todos los tubos. Mezclar. Incubar durante 30 min a 18-25 °C con agitación a >280 rpm.	Aspirar cuidadosamente el contenido de cada tubo (excepto los 2 tubos para la actividad total T). Lavar los tubos con 2 mL de solución de lavado y aspirar. Cuentas incorporadas cpm (B) y las cpm totales (T) por 1 min.

*Añadir 200 µL de trazador en 2 tubos suplementarios para obtener los cpm totales.

RESULTADOS

Los resultados se deducen de la curva estándar por interpolación. La curva sirve para determinar los niveles de AFP de las muestras analizadas al mismo tiempo que los calibradores.

Curva estándar

Los resultados presentados en éstas instrucciones han sido calculados empleando una representación de trazado log-log (modo "spline") representando en ordenadas la radioactividad medida (cpm_{cal.} - cpm_{cal.0}) y en abscisas la concentración en AFP de los calibradores (UI/mL). La utilización de otro modo de cálculo puede conducir a resultados ligeramente diferentes.

Actividad total: 107.924 cpm				
Calibradores	UI/mL	cpm (n=3)	B/T (%)	cpm_{cal.} - cpm_{cal.0}
0	0	20	0,02	-
1	3	2096	1,83	2076
2	10	6511	5,68	6491
3	40	22 881	20,0	22 861
4	150	61 576	53,7	61 556
5	400	94 180	82,2	94 160

(Ejemplo de curva estándar, no utilizar para los cálculos)

Muestras

Ver la relación cpm_{muestra} - cpm_{cal.0} para cada muestra sérica o líquido amniótico diluido sobre el eje vertical, luego el punto correspondiente de la curva estándar sobre el eje horizontal y deducir por lectura la concentración de AFP de la muestra en UI/mL. Las concentraciones de las muestras diluidas deben ser corregidas por el factor de dilución.

Para convertir los UI/mL en ng/mL, multiplicar los resultados por 1,21.

VALORES ESPERADOS

Concentraciones séricas de AFP en sujetos normales

Se aconseja a cada laboratorio establecer sus propios valores de referencia. Los resultados deberán ser interpretados como una ayuda dentro de la situación clínica del paciente, incluyendo la historia clínica, así como los datos provenientes de otras testas adicionales.

Los valores siguientes son dados a título orientativo. Las concentraciones de AFP sérica de la tabla han sido obtenidas a partir de 58 hombres sanos y de 36 mujeres sanas no estando embarazadas.

	Número de muestras	Concentración. (UI/mL)	Valor medio (UI/mL)
Varón:	58	0,46 - 6,41	3,12
Hembra:	36	0,49 - 9,84	1,94

Interpretación de resultados de detección prenatal

Los resultados deberán ser interpretados como una ayuda dentro de la situación clínica del paciente, incluyendo la historia clínica, así como los datos provenientes de otras testas adicionales.

Se aconseja a cada laboratorio de establecer sus propios valores de referencia en acuerdo con el método utilizado para la evaluación del riesgo del síndrome de Down. Fuera de este contexto, un dato de AFP aislado no tiene ningún valor diagnóstico.

CONTROL DE CALIDAD

Las prácticas correctas de laboratorio implican que los controles sean utilizados en cada serie de análisis para asegurar la calidad de los resultados obtenidos. Estos controles deberán ser tratados de la misma forma que las muestras a analizar y se recomienda que los resultados sean analizados con la ayuda de métodos estadísticos adecuados.

En caso de detectar un deterioro en el emvasado del producto ó que los resultados expresen una alteración en las características del mismo, contactar con el Distribuidor local ó notificar a la dirección de e-mail: imunochem@beckman.com

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

(ver la hoja "APPENDIX" para más detalles)

Se facilitan datos representativos solo a modo de ejemplo. El rendimiento obtenido en los distintos laboratorios puede variar.

Sensibilidad

Sensibilidad analítica: 0,11 UI/mL

Sensibilidad funcional: 0,2 UI/mL

Especificidad

Los anticuerpos utilizados en este equipo no presentan radioactividades cruzadas con albúmina sérica humana, la transferrina, las inmunoglobulinas G humanas, la hemoglobina o la bilirrubina.

Precisión

Intra- ensayo

Las muestras han sido analizadas 25 veces en una misma serie. Los coeficientes de variación obtenidos son inferiores o iguales a 6,9 % para el suero y 3,0 % para el líquido amniótico.

Inter-análisis

Las muestras han sido analizadas en 10 series diferentes por duplicado. Los coeficientes de variación obtenidos son inferiores o iguales a 6,3 % para el suero y 10,9 % para el líquido amniótico.

Precisión

Prueba de dilución

Las muestras de concentración elevada han sido diluidas. Los porcentajes de recuperación varían entre 86 % y 111 % para el suero y tra 92 % y 112 % para el líquido amniótico..

Prueba de recuperación

Cantidades conocidas de AFP han sido añadidas a muestras de baja concentración. Los porcentajes de recuperación varían entre 88 % y 108 % para el suero y tra 100 % y 119 % para el líquido amniótico.

Rango de medida (a partir de la sensibilidad analítica del calibrador más alto): 0,11 hasta aproximadamente 400 UI/mL.

LIMITACIONES

El no respetar las instrucciones de uso puede afectar significativamente a los resultados.

No utilice muestras hemolizadas, ictéricas o lipémicas.

En los ensayos en los que se utilizan anticuerpos existe la posibilidad de que se produzcan interferencias debido a la presencia de anticuerpos heterófilos en la muestra del paciente. Los pacientes que hayan estado en contacto regularmente con animales o hayan recibido inmunoterapia o procedimientos diagnósticos con inmunoglobulinas o fragmentos de inmunoglobulinas pueden producir anticuerpos, p.ej. HAMA, que interfieren con los inmunoensayos.

Esos anticuerpos que crean interferencias pueden causar resultados erróneos. Evaluar cuidadosamente los resultados de los pacientes que se sospeche que puedan tener esos anticuerpos.

Efecto gancho

No se observó efecto hook en el análisis de dos pasos utilizado.

AFP IRMA KIT

REF IM1441, IM3285

ΑΝΟΣΟΡΑΔΙΟΜΕΤΡΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΓΙΑ ΤΩΝ IN VITRO ΠΟΣΟΤΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ

ΤΗΣ AFP ΣΕ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΟ ΚΑΙ ΣΕ ΑΜΝΙΑΚΟ ΥΓΡΟ Για διαγνωστική χρήση *in vitro*

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Η εξέταση της AFP είναι εξέταση τύπου “σάντουιτς” δύο βημάτων στην οποία χρησιμοποιούνται δύο μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού, που κατευθύνονται κατά δύο διαφορετικών επίτοπων του μορίου. Τα δείγματα και τα βαθμονομητές επωάζονται πρώτα σε σωληνάρια επιστρωμένα με το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα. Στη συνέχεια αποχύνονται τα υγρά περιεχόμενα των σωληναρίων και η παρουσία της AFP στο δείγμα αποκαλύπτεται από την επώαση με το δεύτερο αντίσωμα που είναι επιστημασμένο με Ιώδιο 125. Αποχύνονται τα υγρά περιεχόμενα των σωληναρίων και η δεσμευμένη ραδιενέργεια μετράται στη συνέχεια σε gamma counter. Οι συγκεντρώσεις AFP των δειγμάτων προσδιορίζονται με παρεμβολή σε πρότυπη καμπύλη. Η συγκέντρωση AFP των δειγμάτων είναι ευθέως ανάλογη της ραδιενέργειας.

Τα δεδομένα μπορούν να χρησιμοποιηθούν:

- Στην ογκολογία,
- Οι συγκεντρώσεις AFP που προσδιορίζονται με αυτό το kit μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό με τις συγκεντρώσεις μη συζευγμένης οιστριόλης και hCG για την εκτίμηση του κινδύνου συνδρόμου Down (τρισωμία 21). Μια τέτοια προσέγγιση έχει επικυρωθεί με βάση την ανάλυση κατανομής πολλών μεταβλητών Gaussian (Wald και άλλοι: Brit Med J 297, 883 – 887; 1988). Είναι απαραίτητο να χρησιμοποιείται λογισμικό με σήμανση (CE Mark) για την διεξαγωγή του ρίσκου της τρισωμίας 21, π.χ. λογισμικό alpha™ (alpha είναι το λογότυπο της εταιρείας logical Medical Systems).

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Γενικές παρατηρήσεις:

- Μην ανακατεύετε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες.
- Τα φιαλίδια των ορών βαθμονόμησης και των ορών ελέγχου πρέπει να ανοίγονται όσο το δυνατόν λιγότερο, προς αποφυγήν εξατμίσεως του περιεχομένου.
- Κάνετε ταυτόχρονα την πρότυπη καμπύλη και τον ποσοτικό προσδιορισμό των δειγμάτων.
- Σας συστήνεται να πραγματοποιείτε δύο φορές τον κάθε προσδιορισμό.
- Κάθε σωληνάριο μόνο για μια χρήση.

Προστασία από την ιονίζουσα ακτινοβολία

Η αγορά, η κατοχή, η χρήση και η μεταφορά του ραδιενεργού υλικού υπόκεινται στους κανονισμούς της χώρας στην οποία το υλικό αυτό χρησιμοποιείται. Η συμμόρφωση με τους βασικούς κανόνες ασφάλειας από την ακτινοβολία παρέχει επαρκή προστασία :

- Υπό την παρουσία ραδιενεργών υλικών, μην καταναλώνετε τρόφιμα ή ποτά, μην καπνίζετε και μη χρησιμοποιείτε καλλυντικά.
- Μη χρησιμοποιείτε το στόμα για να πιπετάρετε τα ραδιενεργά υλικά.
- Αποφύγετε κάθε άμεση επαφή με τα ραδιενεργά υλικά, και χρησιμοποιείτε γάντια και εργαστηριακή ποδιά.
- Κάθε χειρισμός ραδιενεργού υλικού πρέπει να γίνεται σε κατάλληλο χώρο, μακριά από διαδρόμους και άλλα πολυσύχναστα μέρη.
- Το αρχείο παραλαβής και αποθήκευσης ραδιενεργών υλικών πρέπει να είναι πάντα ενημερωμένο.
- Το αρχείο παραλαβής και αποθήκευσης ραδιενεργών υλικών πρέπει να είναι πάντα ενημερωμένο.
- Ο εργαστηριακός εξοπλισμός ή τα γυάλινα σκεύη που έχουν μολυνθεί από ραδιενεργά υλικά πρέπει να απομονώνονται, προκειμένου να αποφευχθεί μόλυνση από διαφορετικά ραδιοϊσότοπα.
- Κάθε περίπτωση ραδιενεργής μόλυνσης ή απώλειας ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να επιλύεται με βάση τις ισχύουσες διαδικασίες.
- Ο χειρισμός των ραδιενεργών αποβλήτων πρέπει να ακολουθεί τους κανονισμούς της χώρας στην οποία χρησιμοποιείται το ραδιενεργό υλικό.

Αζίδιο του Νατρίου

Κάποια αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο του Νατρίου ως συντηρητικό. Το αζίδιο του Νατρίου μπορεί να αντιδράσει με το χαλκό ή το μόλυβδο προς το σχηματισμό εκρηκτικών αζιδίων των μετάλλων. Η απόρριψη των αντιδραστηρίων πρέπει να γίνεται μέσα από το υδραυλικό σύστημα, χρησιμοποιώντας μεγάλες ποσότητες νερού.

Υλικό ανθρώπινης προέλευσης

Τα ανθρώπινης προέλευσης υλικά που περιέχονται στα αντιδραστήρια του kit βρέθηκαν αρνητικά, σε ότι αφορά στα αντισώματα αντι-HIV 1 και HIV 2, στα αντισώματα HCV και το επιφανειακό αντιγόνο της Ηπατίτιδας Β (HbsAg). Παρόλα αυτά, ο χειρισμός τους πρέπει να γίνεται σαν να ήταν ικανά να μεταδώσουν τις ασθένειες. Δεν υπάρχει κάποια γνωστή μέθοδος ελέγχου που να διασφαλίζει με απόλυτη βεβαιότητα ότι δεν υπάρχει παράγοντας μόλυνσης, γι' αυτόν τον λόγο είναι απαραίτητο να λαμβάνονται προφυλάξεις κατά τη διάρκεια του χειρισμού.

Όλα τα δείγματα ορού πρέπει να τα χειρίζεστε ως ικανά να μεταδώσουν ηπατίτιδα ή AIDS. Δημιουργημένο απόρριμμα να εκκαθαρισθεί σύμφωνα με ισχύω κανονισμό.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ ΚΑΤΑ ΠΕΣ

Wash Solution (20X)

ΚΙΝΔΥΝΟΣ



H360

P201

P280

P308+P313

Μπορεί να βλάψει τη γονιμότητα ή το έμβρυο. Εφοδιαστείτε με τις ειδικές οδηγίες πριν από τη χρήση. Να φοράτε προστατευτικά γάντια, προστατευτικά ενδύματα και μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/το πρόσωπο.

Σε περίπτωση έκθεσης ή πιθανότητας έκθεσης: συμβουλευθείτε/επισκεφθείτε γιατρό.
Βορικό οξύ 0,1 - 0,3%
Δεκαένυδρο βορικό νάτριο 0,1 - 0,3%

SDS

Το Δελτίο δεδομένων ασφάλειας είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση techdocs.beckmancoulter.com

ΣΥΛΛΟΓΗ, ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ, ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΑΡΑΙΩΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Δείγματα ορού

- Συλλέξτε το αίμα σε σωληνάρια χωρίς προσθετικά.
- Διαχωρίστε τον ορό με φυγοκέντρηση.
- Τα δείγματα ορού μπορούν να διατηρηθούν στους 2-8 °C, αν η εξέταση πρόκειται να γίνει σε 24 ώρες. Για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα, διατηρήστε τα στην κατάψυξη σε θερμοκρασία χαμηλότερη των -18 °C (για 2 μήνες το πολύ) ή κατά προτίμηση σε θερμοκρασία χαμηλότερη των -80 °C (για 1 χρόνο το πολύ) χωρισμένα σε μικρότερες ποσότητες, ώστε να αποφεύγεται η επαναλαμβανόμενη κατάψυξη και απόψυξη. Η απόψυξη των δειγμάτων πρέπει να γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου.
- Αν τα δείγματα που έχουν αναλυθεί έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση από το βαθμονομητής με την υψηλότερη συγκέντρωση, πρέπει να αραιωθούν στο ρυθμιστικό φωσφορικό.

Δείγματα αμνιακού υγρού

- Συλλέξτε το αμνιακό υγρό σε στεγνά σωληνάρια χωρίς προσθετικά.
- Τα δείγματα αμνιακού υγρού μπορούν να διατηρηθούν στους 2-8 °C, αν η εξέταση πρόκειται να γίνει σε 24 ώρες. Για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα, διατηρήστε τα στην κατάψυξη σε θερμοκρασία χαμηλότερη των -18 °C (για 2 μήνες το πολύ) ή κατά προτίμηση σε θερμοκρασία χαμηλότερη των -80 °C (για 1 χρόνο το πολύ) χωρισμένα σε μικρότερες ποσότητες, ώστε να αποφεύγεται η επαναλαμβανόμενη κατάψυξη και απόψυξη. Η απόψυξη των δειγμάτων πρέπει να γίνεται σε θερμοκρασία δωματίου.

- Τα δείγματα αμνιακού υγρού αραιώνονται 1:100 σε φωσφορικό ρυθμιστικό πριν από την εξέταση.

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

Όλα τα αντιδραστήρια είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του kit, όταν αποθηκεύονται σε θερμοκρασία 2-8 °C. Οι ημερομηνίες λήξης που αναγράφονται στις ετικέτες των φιαλιδίων αφορούν αποκλειστικά στη μακροπρόθεσμη αποθήκευση των αντιδραστηρίων από τον κατασκευαστή, πριν από τη συναρμολόγηση του kit. Να μη λαμβάνονται υπόψη.

Οι συνθήκες αποθήκευσης των αντιδραστηρίων μετά από ανασύσταση ή αραιώση αναφέρονται στην παράγραφο «Διαδικασία».

Kit για τον προσδιορισμό της AFP, 100 σωληνάρια (αρ. κατ. IM1441)

Σωληνάρια επιστρωμένα με μονοκλωνικό αντίσωμα κατά της AFP: 2x50 σωληνάρια (έτοιμα προς χρήση)

Ιχνηθέτης - μονοκλωνικό αντίσωμα κατά της AFP επισημασμένο με ¹²⁵I: ένα φιαλίδιο των 22 mL (έτοιμο προς χρήση).

Το φιαλίδιο περιέχει, την ημέρα που παρασκευάζεται, 320 kBq επισημασμένης με Ιώδιο 125 ανοσοσφαιρίνης σε ρυθμιστικό που περιέχει αλμπουμίνη βοδινού ορού, αζίδιο του Νατρίου (<0,1%) και μια χρωστική.

Βαθμονομητής AFP: έξι φιαλίδια των 0,5 mL (έτοιμα προς χρήση).

Τα βαθμονομητής φιαλίδια περιέχουν από 0 μέχρι κατά προσέγγιση 400 IU/mL AFP σε βοδινό ορό με αζίδιο του Νατρίου (<0,1%). Οι ακριβείς συγκεντρώσεις αναγράφονται στην ετικέτα κάθε φιαλιδίου. Τα βαθμονομητής είναι βαθμονομημένα με βάση το διεθνές πρότυπο της α-φетоπρωτεΐνης, ανθρώπινη 72/225. (1 IU WHO = 1.21 ng AFP)

Δείγματα ελέγχου: 2 φιαλίδια (λυοφιλημένα)

Τα φιαλίδια περιέχουν λυοφιλημένη AFP σε ανθρώπινο ορό. Οι αναμενόμενες τιμές κυμαίνονται μεταξύ των συγκεντρώσεων που αναγράφονται σε επιπλέον φυλλάδιο.

Φωσφορικό ρυθμιστικό: ένα φιαλίδιο των 30 mL (έτοιμο προς χρήση).

Το φιαλίδιο περιέχει ρυθμιστικό με αλμπουμίνη βοδινού ορού.

Διάλυμα πλύσης (20x): ένα φιαλίδιο των 50 mL

Το συμπυκνωμένο διάλυμα πρέπει να αραιωθεί πριν από τη χρήση.

Kit για τον προσδιορισμό της AFP, 400 σωληνάρια (αρ. κατ. IM3285)

Σωληνάρια επιστρωμένα με μονοκλωνικό αντίσωμα κατά της AFP: 8x50 σωληνάρια (έτοιμα προς χρήση).

Ιχνηθέτης - μονοκλωνικό αντίσωμα 1 κατά της AFP επισημασμένο με ¹²⁵I: τέσσερα φιαλίδια των 22 mL (έτοιμα προς χρήση).

Βαθμονομητής AFP: έξι φιαλίδια των 0,5 mL (έτοιμα προς χρήση).

Δείγματα ελέγχου: 2 φιαλίδια (λυοφιλημένα)

Φωσφορικό ρυθμιστικό: τέσσερις φιάλες των 30 mL (έτοιμες προς χρήση).

Διάλυμα πλύσης (20x): 2 φιαλίδια των 50 mL

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Ο απαιτούμενος εργαστηριακός εξοπλισμός, επιπλέον του συνήθους, είναι ο εξής:

- μικροπιπέτες ακριβείας (50 μL).
- ημιαυτόματες πιπέτες (150 μL, 200 μL, 2 mL).
- μίξερ τύπου vortex.
- Shaker με οριζόντια πλατφόρμα παλινδρόμησης ή με πλατφόρμα ταλάντωσης.
- Σύστημα απόχυσης
- gamma counter σειτ για Ιώδιο 125

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Αφήστε όλα τα αντιδραστήρια να φθάσουν σε ισορροπία σε θερμοκρασία δωματίου.

Προετοιμασία των ορών ελέγχου

Το περιεχόμενο των φιαλιδίων ανασυστάται με το όγκο απεσταγμένου νερού που αναγράφεται στην ετικέτα. Περιμένετε 10 λεπτά μετά την ανασύσταση και ανακατέψτε ελαφρά ώστε να μη δημιουργηθεί αφρός, πριν την διανομή στα σωληνάρια. Τα ανασυσταμένα διαλύματα διατηρούνται χωρισμένα σε

μικρότερες ποσότητες σε θερμοκρασία χαμηλότερη των -18 °C, μέχρι την ημερομηνία λήξης του kit.

Προετοιμασία του διάλυμα πλύσης

Προσθέστε το περιεχόμενο του φιαλιδίου σε 950 mL απεσταγμένου νερού και ομογενοποιήστε. Το αραιωμένο διάλυμα μπορεί να αποθηκευθεί στους 2-8 °C μέχρι την ημερομηνία λήξης του kit.

Περίληψη της διαδικασίας εξέτασης

Αφήστε όλα τα αντιδραστήρια να φθάσουν σε ισορροπία σε θερμοκρασία δωματίου.

Βήμα 1 Πρώτη επώαση	Βήμα 2 Πλύσιμο
Προσθέστε στα επιστρωμένα σωληνάρια διαδοχικά: 50 μL βαθμονομητής ή δείγματος και 150 μL φωσφορικού ρυθμιστικού. Ανακατέψτε. Επώαστε 15 λεπτά στους 18-25 °C με ανάδευση σε >280 rpm.	Αποχύστε προσεχτικά το περιεχόμενο των σωληναρίων. Προσθέστε 2 mL διαλύματος πλύσης και αποχύστε προσεχτικά.

Βήμα 3 Δεύτερη επώαση	Βήμα 4 Πλύσιμο και μέτρηση
Προσθέστε 200 μL ιχνηθέτη σε όλα τα σωληνάρια. Ανακατέψτε. Επώαστε 30 λεπτά στους 18-25 °C με ανάδευση σε >280 rpm.	Αποχύστε προσεχτικά το περιεχόμενο των σωληναρίων (εκτός από τα 2 σωληνάρια για την ολική ραδιενέργεια T). Πλύντε τα σωληνάρια με 2 mL διαλύματος πλύσης και αποχύστε. Μετρήστε τη ραδιενέργεια των δεσμευμένων (B) και ολικών (T) κρούσεων Για 1 λεπτό.

*Προσθέστε 200 μL ιχνηθέτη σε 2 επιπλέον σωληνάρια για να βρείτε τις ολικές κρούσεις.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα των δειγμάτων υπολογίζονται με παρεμβολή στην πρότυπη καμπύλη. Η καμπύλη χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων AFP σε δείγματα που μετρώνται ταυτόχρονα με τα βαθμονομητής.

Πρότυπη καμπύλη

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται σε αυτό το φυλλάδιο υπολογίστηκαν με τη χρήση log-log καμπύλης προσαρμογής (μέθοδος "spline") με την προσδιοριζόμενη ραδιενέργεια ($cpm_{cal} - cpm_{cal0}$) στον κάθετο άξονα, και τις συγκεντρώσεις AFP των βαθμονομητών (IU/mL) στον οριζόντιο άξονα. Άλλες μέθοδοι αναγωγής δεδομένων μπορεί να οδηγήσουν σε ελαφρώς διαφορετικά αποτελέσματα.

Ολική ραδιενέργεια: 107.924 cpm				
Βαθμονομητές	IU/mL	cpm (n=3)	B/T (%)	$cpm_{cal} - cpm_{cal0}$
0	0	20	0,02	-
1	3	2.096	1,83	2.076
2	10	6.511	5,68	6.491
3	40	22.881	20,0	22.861
4	150	61.576	53,7	61.556
5	400	94.180	82,2	94.160

(Παράδειγμα πρότυπης καμπύλης, να μη χρησιμοποιηθεί σε υπολογισμούς)

Δείγματα

Σημειώστε για κάθε δείγμα ορού ή αμνιακού υγρού την τιμή $cpm_{sample} - cpm_{cal0}$ στον κάθετο άξονα, έπειτα το αντίστοιχο σημείο στην καμπύλη και διαβάστε στον οριζόντιο άξονα την αντίστοιχη συγκεντρωμένη AFP σε IU/mL. Οι συγκεντρώσεις των αραιωμένων δειγμάτων πρέπει να διορθωθούν με τον παράγοντα αραιώσεως.

Για να μετατρέψετε τις συγκεντρώσεις από IU/mL σε ng/mL, πολλαπλασιάστε τα αποτελέσματα με το 1.21.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Φυσιολογικές συγκεντρώσεις AFP ορού

Προτείνουμε το κάθε εργαστήριο να καθιερώσει τις δικές του τιμές αναφοράς. Τα αποτελέσματα θα πρέπει να ερμηνευθούν υπό το φως της συνολικής κλινικής παρουσίασης του ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων του κλινικού

ιστορικού, των δεδομένων από συμπληρωματικά τεστ και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Οι τιμές που ακολουθούν προέκυψαν από υγιή άτομα και είναι απλώς ενδεικτικές. Οι συγκεντρώσεις AFP ορού στον πίνακα προέκυψαν από 58 υγιείς άνδρες και 36 υγιείς μη έγκυες γυναίκες.

	Αριθμός δειγμάτων	Εύρος συγκ/σεων (IU/mL)	Κεντρική τιμή (IU/mL)
άντρες:	58	0,46 - 6,41	3,12
γυναίκες:	36	0,49 - 9,84	1,94

Ερμηνεία των δεδομένων του προγεννητικού ελέγχου

Τα αποτελέσματα πρέπει να ερμηνευθούν λαμβάνοντας υπόψη τη συνολική κλινική παρουσίαση της ασθενούς, συμπεριλαμβανομένων της κλινικής ιστορίας, των δεδομένων από συμπληρωματικές εξετάσεις και άλλων κατάλληλων πληροφοριών.

Έξω από ένα τέτοιο πλαίσιο, τα δεδομένα για τη AFP από μόνα τους δεν έχουν καμία διαγνωστική αξία. Προτείνουμε το κάθε εργαστήριο να καθιερώσει τις δικές του κεντρικές τιμές.

ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Η σωστή εργαστηριακή πρακτική προϋποθέτει την τακτική χρήση δειγμάτων ελέγχου, προκειμένου να διασφαλίζεται η ποιότητα των αποτελεσμάτων. Η επεξεργασία των δειγμάτων αυτών πρέπει να γίνεται με τον ίδιο τρόπο με τον οποίο γίνεται η επεξεργασία των άγνωστων δειγμάτων. Επιπλέον, συστήνεται η ανάλυση των αποτελεσμάτων τους να γίνεται με τη βοήθεια των κατάλληλων στατιστικών μεθόδων.

Σε περίπτωση επιδείνωσης συσκευασίας ή εάν τα αποτελέσματα που προέκυψαν έχουν τροποποίηση απόδοσης, παρακαλώ ελάτε σε επαφή με τον τοπικό διανομέα σας ή χρησιμοποιήστε την ακόλουθη διεύθυνση ηλεκτρονικού ταχυδρομείου: imunochem@beckman.com

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

(βλέπε τη σελίδα "APPENDIX" για περισσότερες λεπτομέρειες)

Τα αντιπροσωπευτικά δεδομένα παρέχονται μόνο ως παράδειγμα. Η απόδοση που επιτυγχάνεται σε κάθε εργαστήριο μπορεί να διαφέρει.

Ευαισθησία

Αναλυτική ευαισθησία: 0,11 IU/mL

Λειτουργική ευαισθησία: 0,2 IU/mL

Εξειδίκευση

Δεν παρατηρήθηκαν διασταυρωτές αντιδραστικότητες ανάμεσα στα αντισώματα που χρησιμοποιούνται σε αυτό το kit και στην αλμπουμίνη του

ανθρώπινου ορού, τρανσφερίνη, τις ανοσοσφαιρίνες, την αιμοσφαιρίνη ή τη χολερυθρίνη.

Ακρίβεια

Εντός της δοκιμής

Δείγματα εξετάστηκαν 25 φορές στην ίδια σειρά. Οι συντελεστές απόκλισης που προέκυψαν ήταν μικρότεροι ή ίσοι με 6,9% για τον ορό και 3,0% για αμνιακό υγρό.

Εκτός της δοκιμής

Δείγματα εξετάστηκαν δύο φορές το καθένα σε 10 διαφορετικές σειρές. Οι συντελεστές απόκλισης που προέκυψαν ήταν μικρότεροι ή ίσοι με 6,3% για τον ορό και 10,9% για αμνιακό υγρό.

Ακρίβεια

Δοκιμή αραιώσεως

Δείγματα υψηλής συγκέντρωσης αραιώθηκαν διαδοχικά. Τα ποσοστά ανάκτησης κυμαίνονταν μεταξύ 86% και 111% για τον ορό και μεταξύ 92% και 112% για αμνιακό υγρό.

Δοκιμή ανάκτησης

Γνωστά ποσότητες AFP προστέθηκαν σε δείγματα χαμηλής συγκέντρωσης. Τα ποσοστά ανάκτησης κυμαίνονταν μεταξύ 88% και 108% για τον ορό και μεταξύ 100% και 119% για αμνιακό υγρό.

Εύρος μέτρησης (από αναλυτική ευαισθησία έως τον υψηλότερο βαθμονομητή): 0.11 μέχρι κατά προσέγγιση 400 IU/mL.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Η μή τήρηση των οδηγιών που περιέχονται στο έντυπο μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τα αποτελέσματα.

Αποφύγετε τη χρήση βαριά αιμόλυση, ικτερικά ή λιπαιμικά δείγματα.

Για προσδιορισμούς που χρησιμοποιούν αντισώματα, υπάρχει πιθανότητα παρεμβολής από ετερόφιλα αντισώματα στο δείγμα του ασθενούς. Οι ασθενείς που ήρθαν σε συχνή επαφή με ζώα ή έκαναν ανοσοθεραπεία ή διαγνωστικές επεμβάσεις με τη βοήθεια ανοσοσφαιρινών ή μμήματα ανοσοσφαιρίνης πιθανόν να παραγάγουν αντισώματα, π.χ. HAMA, που παρεμβάλλουν στους ανοσοπροσδιορισμούς.

Τα εν λόγω παρεμβάλλοντα αντισώματα πιθανόν να προκαλέσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Να αξιολογείτε προσεκτικά τα αποτελέσματα ασθενών που υποπτεύεστε ότι φέρουν αυτά τα αντισώματα.

Hook effect

Δεν υπάρχει hook effect όταν χρησιμοποιείται η διαδικασία δύο βημάτων.

AFP IRMA KIT

REF IM1441, IM3285

IMUNORADIOMETRINIO TYRIMO RINKINYS, SKIRTAS IN VITRO NUSTATYTI

ALFA-PROTEINŲ ŽMOGAUS KRAUJO SERUME IR AMNIO VANDENYSE

Diagnostikai *in vitro*

PRINCIPAS

Imunoradiometrinis AFP tyrimas yra dviejų etapų „sumuštinio“ pobūdžio tyrimas, kuriame naudojami dviejų rūšių pelės monokloniniai antikūnai skirtingiems molekulinės epitopams. Tiriama pavyzdžiai, kontroliniai ir kalibruoti mėginiai inkubuojami mėgintuvėliuose, padengtuose vienos rūšies monokloniniais antikūnais. Po to mėgintuvėlių turinys pašalinamas ir AFP nustatomas inkubuojant su ¹²⁵I pažymėtu kitos rūšies antraisiais antikūnais. Inkubavimui pasibaigus mėgintuvėlių turinys pašalinamas praplaunant nesusijungusius pažymėtus antikūnus ir matuojamas ¹²⁵I surištas radioaktyvumas. AFP koncentracija, tiesiogiai proporcinga aktyvumui, nustatoma interpoliacijos metodu pagal kalibravimo kreivę.

Šio tipo tyrimų rezultatai naudojami:

- onkologijoje,
- kartu su tyrimo rezultatais nustatant hCG ir nesujungto estriolio Dauno sindromo rizikos nustatymui (trisomija 21). Metodika patikrinta Gauso paskirstymo metodo pagrindu (Wald et al.: BMJ 297, 883 – 887, 1988). Primitytinai rekomenduojame naudoti sertifikuotą (CE), skirtą specialiai įvertinti Dauno sindromą, kompiuterinę programą, pvz. Programa alfa™ (Alfa yra kompanijos Logical Medical Systems produktas).

ISPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

Bendros pastabos:

- Nemašyk skirtingų rinkinių partijų reagentus.
- Buteliukus su kalibravimo ir kontroliniais mėginiais laikyti atidarytus minimalų laiko tarpą, kad neišgaruotų skystis.
- Kalibruojančių bandinių ir tiriamų mėginių analizę atliekama vienu metu.
- Rekomenduojama atlikti bandinį du kartus.
- Mėgintuvėliai skirti vienkartiniam naudojimui.

Pagrindinės radiacinės saugos taisyklės

Radioaktyvių medžiagų gavimas, naudojimas ir transportavimas turi vykti remiantis šioje šalyje galiojančiomis radiacinės saugos normomis sanitarinėmis darbo su radioaktyviomis medžiagomis taisyklėmis.

- Šalia radioaktyviųjų medžiagų negalima valgyti, gerti, rūkyti ar taikyti kosmetikos priemones
- Negalima pipetuoti radioaktyviųjų tirpalų burna.
- Venkite bet kokio kontakto su radioaktyviomis medžiagomis, mūvėdami pirštinėmis ir vilkėdami laboratorinius chalatus.
- Visos manipuliacijos su radioaktyviomis medžiagomis turi būti vykdomos tinkamoje vietoje, toli nuo koridorių ir kitų judrių vietų.
- Radioaktyvios medžiagos turi būti saugomos konteineryje tam skirtoje vietoje.
- Turi būti vedama savalaikė visų radioaktyviųjų produktų gavimo ir saugojimo registracija.
- Laboratorinė įranga ir stikliniai indai, kurie gali būti užteršti, turėtų būti atskirti, siekiant išvengti kryžminio užteršimo skirtingais radioizotopais.
- Kiekvienas radioaktyvaus užteršimo ar radioaktyvios medžiagos praradimo atvejis turi būti tvarkomas pagal nustatytas procedūras.
- Radioaktyvios atliekos turi būti tvarkomos pagal šalyje nustatytas taisykles.

Natrio azidas


Kai kurių reagentų sudėtyje yra natrio azido, atliekančio konservanto vaidmenį. Natrio azidas gali reaguoti su švinu, variu ar žalvariu ir sudaryti sprogus metalų azidus. Reagentus pašalinkite per santechninę sistemą, nuplaudami gausiu vandeniu.

Žmogaus kilmės medžiagos

Žmogaus kilmės medžiagos, kurių yra rinkinio komponentų sudėtyje, neturi HIV 1, HIV 2, HCV antikūnių ir hepatito B (HBsAg) paviršinio antigeno antikūnio. Tačiau nė vienas šiuolaikinės analizės metodas negali garantuoti, kad tiriamojoje medžiagoje nėra infekcinių agentų. Todėl dirbant su rinkinio komponentais būtina laikytis saugumo priemonių.

Su tiriamais žmogaus serumo mėginiais būtina elgtis kaip su potencialiais infekcijos nešiotojais, galinčiais užkrėsti AIDS ir hepatito virusais. Mėginių atliekos turi būti šalinamos vadovaujantis toje šalyje galiojančiais įstatymais.

VISUOTINAI SUDERINTOS SISTEMOS (GHS) PAVOJINGUMO KLASIFIKACIJA

Wash Solution (20X)	PAVOJINGA	
		
H360		Gali pakenkti vaisingumui arba negimusiam vaikui.
P201		Prieš naudojimą gauti specialias instrukcijas.
P280		Mūvėti apsaugines pirštines, vilkėti apsauginę aprangą ir naudoti akių (veido) apsaugos priemones.
P308+P313		ESANT sąlyčiui arba įėjus numanomas sąlytis: kreiptis į gydytoją. Boro rūgštis 0,1 - 0,3% Natrio borato dekahidratas 0,1 - 0,3%

SDS

Saugos duomenų lapą galima gauti interneto svetainėje techdocs.beckmancoulter.com

MĖGINIŲ ĖMIMAS, PARUOŠIMAS, LAIKYMAS IR PRASKIEDIMAS

Kraujo serumas

- Kraujas supilamas į švarius sausius mėgintuvėlius.
- Centrifuguojant atskirti kraujo serumą.
- Serumo mėginius galima laikyti 2-8 °C temperatūroje 24 valandas; <-18 °C temperatūroje laikyti ne ilgiau kaip 2 mėnesius, o -80 °C temperatūroje iki 1 metų. Siekiant išvengti pakartotinio mėginių užšaldymo ir atšildymo mėginius patartina suskirstyti į kelias dalis. Tiriamus mėginius reikia atšildyti kambario temperatūroje.
- Jeigu mėginių koncentracija didesnė nei didžiausia kalibratoriaus koncentracija, mėginiai turi būti skiedžiami fosfato buferiu.

Amniono vanduo

- Amniono vanduo supilamas į švarius sausius mėgintuvėlius.
- Amniono vandens mėginius galima laikyti 2-8 °C temperatūroje 24 valandas; <-18 °C temperatūroje laikyti ne ilgiau kaip 2 mėnesius, o -80 °C temperatūroje iki 1 metų. Siekiant išvengti pakartotinio mėginių užšaldymo ir atšildymo mėginius patartina suskirstyti į kelias dalis. Tiriamus mėginius reikia atšildyti kambario temperatūroje.
- Amniono vandens mėginius būtina atskiesti fosfatinio buferiu santykiu 1:100.

PATEIKIAMOS MEDŽIAGOS

Visi reagentai yra patvarūs laikant juos 2-8 °C temperatūroje, kol pasibaigs rinkinio galiojimo terminas. Buteliukų su reagentais etiketėse nurodyta galiojimo terminas galioja tik laikant reagentus gamybinėmis sąlygomis iki pat rinkinio komplektavimo ir netaikytina vartotojo gautai produkcijai.

Reagentų laikymo sąlygos po jų ištirpinimo ar praskiedimo nurodytos skyriuje „Darbo eiga“.

Rinkinys AFP nustatyti, 100 mėgintuvėlių (kategorija Nr. IM1441).

Anti-AFP monokloniniais antikūnais padengti mėgintuvėliai: 2x50 vienetų. (paruošti naudoti).

Žymiklis, ¹²⁵I žymėtu monokloninių anti-AFP antikūnų tirpalas: 1 buteliukas, 22 ml (paruoštas naudoti).

Pagaminimo dieną buteliuke yra 320 kBk ¹²⁵I žymėto imunoglobulino buferyje su jaučio serumo albuminu, dažikliu ir natrio azidu (<0, 1 %).

Kalibruoti mėginiai: 6 buteliukai po 0,5 ml kalibruoto mėginio (paruošti naudoti).

Kalibruotose mėginiuose yra AFP, kurio koncentracija nuo 0 iki maždaug 400 TVnt./ml su jaučio serumo ir natrio azidu (<0,1 %). Tikslios AFP koncentracijos, kalibruotas vadovaujantis žmogaus alfa-proteino tarptautiniu standartu WHO 72/225, nurodytos buteliukų etiketėse. (1 TVnt. atitinka 1, 21 ng AFP).

Kontrolinis serumas: 2 buteliukai (liofilizuoti preparatai).

Buteliuke yra liofilizuotas žmogaus kraujo serumas su žinomu AFP kiekiu. Vandens tūris kontroliniams serumo mėginiams tirpinti nurodytas buteliukų etiketėse, o numatomas koncentracijos diapazonas – papildomame informaciniame lapelyje.

Fosfatinis buferis: 1 buteliukas, 30 ml (paruoštas naudoti).

Buferinio tirpalo sudėtyje yra natrio azido (<0,1 %, žr. skyrių „Atsargumo priemonės“).

Praplovimo tirpalas (20x): 1 buteliukas, 50 ml.

Koncentruotą tirpalą prieš naudojimą reikia praskiesti.

Rinkinys AFP nustatyti, 400 mėgintuvėlių (kategorija Nr. IM3285).

Anti-AFP monokloniniais antikūnais padengti mėgintuvėliai: 8x50 vienetų (paruošti naudoti).

Žymiklis, ¹²⁵I žymėtu monokloninių anti-AFP antikūnų tirpalas: 4 buteliukai po 22 ml (paruošti naudoti).

Kalibruoti mėginiai: 6 buteliukai po 0,5 ml kalibruoto mėginio (paruošti naudoti).

Kontrolinis serumas: 2 buteliukai (liofilizuoti preparatai).

Fosfatinis buferis: 4 buteliukai po 30 ml (paruoštas naudoti).

Plovimo tirpalas (20x): du 50 ml buteliukai

REIKALINGOS, BET NEPATEIKIAMOS MEDŽIAGOS

Be standartinės laboratorinės įrangos, reikalingi:

- mikropipetė (50 µl);
- pusiau automatines pipetės (150 µl, 200 µl; 2 ml);
- sūkurinis maišytuvas („Vortex“ tipo)
- horizontalus orbitinis kratiklis;
- čiurkšlinis siurblys
- gama skaičiuotuvai 125 I aktyvumui skaičiuoti

PROCEDŪRA

Reagentų paruošimas

Palaiykite visus reagentus į kambario temperatūrą.

Kontrolinių mėginių skiedimas

Liofilizuotus mėginius buteliukuose praskiesti distiliuoto vandens kiekiu, nurodytu buteliukų etiketėse. Po 10 min. kruopščiai išmaišyti buteliuko turinį, nesukeliant putų. Paruoštus darbu mėginius galima suskirstyti dalimis ir laikyti < -18 °C temperatūroje, kol pasibaigs jų galiojimo laikas.

Praplaunamojo tirpalo paruošimas

Supilkite buteliuko turinį į 950 ml distiliuoto vandens ir išmaišykite. Praskiestą tirpalą galima sugoti 2-8 °C temperatūroje, kol nesibaigs rinkinio galiojimo laikas.

Tyrimo atlikimas

Palaiykite visus reagentus į kambario temperatūrą.

I žingsnis 1-asis inkubavimas	II žingsnis Praplovimas
Į antikūnais padengtus mėgintuvėlius nuosekliai dėti: 50 µl kalibruotų, kontrolinių, tiriamųjų mėginių ir 150 µl fosfatinio buferio. Sumaišyk. Inkubuoti 15 minučių 18-25 °C temperatūroje nuolat kratant. (>280 osc./min.)	Kruopščiai pašalinti mėgintuvėlių turinį. Kruopščiai nuplauti mėgintuvėlius į kiekvieną pilant po 2 ml praplovimo tirpalo.

III žingsnis 2-asis inkubavimas	IV etapas Praplovimas ir rezultatų skaičiavimas
Į visus mėgintuvėlius dėti po 200 µl žymiklio.* Sumaišyk. Inkubuoti 30 minučių 18-25 °C temperatūroje nuolat kratant. (>280 osc./min.)	Kruopščiai pašalinti mėgintuvėlių turinį (išskyrus T mėginius). Kruopščiai nuplauti mėgintuvėlius į kiekvieną pilant po 2 ml praplovimo tirpalo. Išmatuok (B) ir bendrą ¹²⁵ I aktyvumą (T) (skč./min.) 1 min.

*Siekiant nustatyti 125 I bendrąjį aktyvumą (skč./min./min.) į du papildomus mėgintuvėlius įpilti po 200 µl žymiklio tirpalo.

REZULTATAI

Rezultatai apskaičiuojami interpoliacijos metodu iš kalibravimo kreivės, gautos vienu metu su nežinomų mėginių tyrimu.

Kalibravimo kreivė

Rinkinio kokybės tikrinimo rezultatai, pateikti atskirame lapelyje, gauti nubraižius kalibravimo kreivę logaritmų koordinatėmis, žymint vertikaloje kreivės ašyje išmatuoto ¹²⁵I aktyvumo (B-Bo, skč./min./min.) santykį, o kalibravimo kreivės horizontalioje ašyje – AFP koncentracijas TVnt./ml. Kiti skaičiavimo metodai gali duoti kiek skirtingus rezultatus.

Bendras skaičius: 107.924 skč./min.				
Kalibratoriai	TV/ml	skč./min. (n=3)	B/T (%)	skč./min.kal - skč./min.kal.0
0	0	20	0,02	-
1	3	2 096	1,83	2 076
2	10	6 511	5,68	6 491
3	40	22 881	20,0	22 861
4	150	61 576	53,7	61 556
5	400	94 180	82,2	94 160

(Standartinės kalibravimo kreivės pavyzdys. Nesinaudoti skaičiuojant rezultatus.)

Ėminiai

Kiekvienam tiriamam kraujo serumo ar praskiesto amniono vandens mėginiui vertikaloje kalibravimo kreivės ašyje reikia rasti B-Bo (skč./min./min.) reikšmę, o horizontalioje ašyje – atitinkamą AFP koncentraciją TVnt./ml. Praskiestų mėginių rezultatus reikia padauginti iš skiedimo faktoriaus.

Pervedant koncentracijas iš mlVnt./l į ng/ml, gautą rezultatą reikia padauginti iš 1, 21.

TIKĖTINOS VERTĖS

Normalios AFP koncentracijos

Kiekvienai laboratorijai patartina nustatyti savo standartinius AFP lygmenis vadovaujantis statistškai patikimo klinikinių charakteristikų dydžių tyrimu. Tikrinimo rezultatai turi būti interpretuojami bendrame paciento klinikinio vaizdo kontekste, įskaitant anamnezę, kitų testų duomenis ir kitokią tinkamą informaciją.

Lentelėje pateikti orientaciniai AFP koncentracijos dydžiai, gauti iš 58 sveikų vyrų bei 36 sveikos nenėščios moters.

	Mėginių skaičius	Koncentracijos diapazonas (TVnt./ml.)	Mediana (TVnt./ml.)
Vyrų	58	0,46 - 6,41	3,12
Moterų	36	0,49 - 9,84	1,94

Prenatalinio tikrinimo rezultatų interpretacija

Tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami bendrame paciento klinikinio vaizdo kontekste, įskaitant anamnezę, kitų testų duomenis ir kitokią tinkamą informaciją.

Kiekvienai laboratorijai patartina nustatyti savo standartinius lygmenis vadovaujantis metodika, parinkta Dauno sindromo rizikai nustatyti. Šiuo atveju izoliuotas AFP lygmens nustatymas nepadedą nustatyti diagnozės.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Vadovaujantis „Good laboratory practices“ (geri laboratoriniai įgūdžiai) metodais atliekamų tyrimų kokybei patikrinti, būtina reguliariai naudotis kontroliniais pavyzdžiais, kurių tyrimo etapai tokie patys kaip ir tiriamųjų mėginių. Kokybės tikrinimo rezultatus patartina apdoroti taikant specialius statistinius metodus.

Tuo atveju, kai pakuotė rimtai pažeista arba gauti rezultatai nesutampa su tyrimų charakteristikomis, prašome kreiptis į mūsų specialistus: Elektroninis paštas: imunochem@beckman.com

ANALITINĖS CHARAKTERISTIKOS

(smulkesnė informacija pateikta skyriuje „APPENDIX“.)

Tipingi duomenys pateikiami tik kaip iliustracija. Atskirose laboratorijose gauti efektyvumo duomenys gali skirtis.

Jautrumas

Analitinis jautrumas: 0,11 TVnt./ml.

Funkcionis jautrumas: 0,2 TVnt./ml.

Specifiškumas

Šiame rinkinyje panaudoti antikūnai nesudaro kryžminės reakcijos su žmogaus kraujo serumo albuminu, transferinu, žmogaus IgG, taip pat su hemoglobinu bei bilirubinu.

Preciziškumas

Analizės metu

Mėginiai tirti atlikus 25 pakartojimų tarp vieno žymėjimo serijos. Išmatuotų AFP lygmenų variacijų koeficientas žmogaus kraujo serume neviršijo 6,9 % serumo ir 3,0 % amniono.

Tarp analizių

Dubliuotų mėginių tyrimas atliktas su 10 skirtingų žymėjimų serijų. Pamatuotų AFP lygmenų variacijų koeficientas žmogaus kraujo serume neviršijo 6,3 % serumo ir 10,9 % amniono.

Tikslumas

Praskiedimo testas

Kraujo serumo su aukšta AFP koncentracija serijiniai pavyzdžiai buvo skiedžiami buferiniu tirpalu, o gauti mėginiai – tikrinami. Rezultato išieigos procentas sudarė nuo 86 iki 111 % serumo ir 92 iki 112 % amniono.

„Atsidarymo“ testas

Kraujo serumas su žema gryno AFP koncentracija buvo papildytas tam tikrais AFP kiekiais, o gauti mėginiai – tikrinami. Rezultato išieigos procentas sudarė nuo 88 iki 108 % serumo ir 100 iki 119 % amniono.

Nustatymo ribos (nuo analitinio jautrumo iki aukščiausios kalibravimo mėginio reikšmės): 0,11 iki maždaug 400 TVnt./ml.

RIBOJIMAI

Tyrimo metodikos nepaisymas gali iškraipyti tyrimo rezultatus.

Nenaudokite lipeminių, ūminių ar hemolizuotų bandinių.

Tyrimams, kuriuose naudojami antikūnai, gali trukdyti paciento mėginyje esantys heterofiliniai antikūnai. Pacientai, nuolat kontaktuojantys su gyvūnais arba tie, kuriems taikyta imunoterapija arba diagnostinės procedūros naudojant imunoglobulinus ar imunoglobulinų fragmentus, gali sintetinti antikūnus, pvz., HAMA, trukdančius atlikti imuninius tyrimus.

Tokie trukdantys antikūnai gali lemti klaidingus rezultatus. Pacientų, kurie įtariami turintys šių antikūnų, rezultatus reikia vertinti atsargiai.

Kablo („Hook“) efektas

Dviejų stadijų metode „chuk-efekto“ nėra.

AFP IRMA KIT

REF IM1441, IM3285

IMUNORADIOMETRIÁS ASSAY AZ AFP

IN VITRO MEGHATÁROZÁSÁRA HUMÁN SZÉRUMBÓL ÉS MAGZATVÍZBŐL

In vitro diagnosztikai használatra

MŰKÖDÉSI ELV

Az AFP egy két lépésű "szendvics" típusú assay, amely két – a molekula két különböző epitópja ellen termelt - monoklonális egér antitestet tartalmaz. A mintákat illetve a kalibrátorokat az első monoklonális ellenanyaggal borított csövekben inkubáljuk. Miután a csövek tartalmát eltávolítottuk, a mintában lévő AFP jelenléte a második, ¹²⁵I-jelölt ellenanyaggal történő inkubáció után mutatható ki. Az inkubációs idő letelte után a csövek tartalmát eltávolítjuk és a megkötött radioaktivitást gamma számlálóval meghatározzuk. A mintában lévő AFP koncentrációja a standard görbe interpolációjával határozható meg. A mintában lévő AFP koncentrációja egyenesen arányos a radioaktivitással.

Az eredmények felhasználása:

- Onkológiában,
- A hCG-vel együtt a nemkötött ösztrogén koncentrációja Down szindrómában (21-es kromoszóma triszómiája) alkalmas kockázatfelmérésre. Ezt az alkalmazást a sokváltozós Gauss eloszlás alapján verifikálták (Wald et al.: Brit Med J 297, 883 – 887; 1988). Nyomatékosan ajánljuk, hogy a trisomia 21 veszélyének kiértékelésére kifejezetten erre a célra gyártott, validált (CE jelzéssel ellátott) szoftvert használjanak, pl. alpha™ (alpha a Logical Medical Systems védjegye).

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

Általános megjegyzések:

- Ne keverjen össze különböző gyártási számú reagenseket.
- A kalibrátorokat és kontrollokat tartalmazó üvegeket a lehető legrövidebb ideig tartsák nyitva a nagymértékű párolgás elkerülése érdekében.
- Minden vizsgálathoz készítsen standardgörbét.
- Ajánlott a vizsgálat során két párhuzamos mérést végezni.
- Minden cső csak egyszer használható fel.

Alapvető sugárzásbiztonsági szabályok

Radioaktív anyagok beszerzését, felhasználását és szállítását külön jogszabályok írják elő. Az alábbi alapvető szabályok betartása megfelelő védelmet biztosíthat:

- Radioaktív anyagok jelenlétében ne fogyasszon ételt, italt, ne dohányozzon és ne használjon kozmetikumokat.
- Ne pipetázzon szájjal radioaktív oldatokat.
- Kerülje a radioaktív anyagokkal történő érintkezést: munka közben viseljen egyszer használatos kesztyűt és laboratóriumi köpenyt.
- Minden radioaktív anyaggal végzett műveletet egy erre megfelelő, folyosóktól és más forgalmas részekről távol eső helyen kell elvégezni.
- A radioaktív reagenseket egy erre kijelölt helyen tartott edényben kell tárolni.
- A laboratóriumba érkezett radioaktív anyagok átvételéről és tárolásáról vezessen jegyzőkönyvet.
- Azokat a laboratóriumi eszközöket és üvegedényeket, amelyek radioaktív anyaggal szennyeződhetnek, különítse el, hogy elkerülje a különböző radioizotópokkal történő keresztszennyeződést.
- Sugárszennyeződés vagy radioaktív anyag kiömlése esetén tartsa be az erre vonatkozó előírásokat.
- A radioaktív hulladékot kezelje az adott országban érvényes szabályoknak megfelelően.

Nátrium azid

Egyes reagensek tartósítószerként nátrium azidot tartalmaznak. A nátrium azid reakcióba léphet ólommal, vörösrézrel vagy sárgarézrel robbanékony fémazidok képződése közben. Ezeket a reagenseket a lefolyóba történő kiöntést követően nagy mennyiségű vízzel történő leöblítéssel hatástalanítsa.

Emberi eredetű anyagot

Az ebben a kitben található emberi eredetű komponenseket is tartalmazó reagensek mindegyike negatív HIV 1, HIV 2, HCV ellenanyagokra, továbbá Hepatitis B felszíni antigénre (HBsAg). Mindazonáltal úgy kell őket kezelni, mintha képesek lennének a betegségek átvételére. Jelenleg nincs olyan módszer, mellyel a vírusok megléte teljes bizonyossággal kizárható lenne. Ezért a kitéket az összes szükséges biztonsági előírás betartásával kezeljük.

Minden szérumszám mintát úgy kezeljük, mint hepatitis és AIDS fertőzésre alkalmas anyagokat és a hulladékkal az adott ország szabályai szerint járunk el.

GHS SZERINTI VESZÉLYESSÉGI BESOROLÁS

Wash Solution (20X)

VESZÉLY!



H360

P201

P280

P308+P313

Károsíthatja a termékenységet és a születendő gyermeket.
Használat előtt ismerje meg a vizsgálatra vonatkozó különleges utasításokat.
Védőkesztyű, védőruha és szemvédő/arcvédő használata kötelező.
Expozíció vagy annak gyanúja esetén: orvosi ellátást kell kérni.
Bórsav 0,1 - 0,3%
Nátrium-borát dekahidrát 0,1 - 0,3%

SDS

A biztonsági adatlap megtalálható a következő internetes helyen: techdocs.beckmancoulter.com

MINTAVÉTEL, FELDOLGOZÁS, TÁROLÁS ÉS HIGÍTÁS

Szérumszám minták

- A vért adalékanyagot nem tartalmazó, natív mintavételi csőbe vegyük le.
- A szérumszámot centrifugálással különítsük el.
- A szérumszámot 2-8 °C közötti hőmérsékleten tároljuk, ha 24 órán belül feldolgozzuk. A mintát fagyaszttva tárolhatjuk <-18 °C-on (maximum 2 hónapig) vagy <-80 °C-on (maximum 1 évig) egyenlő adagokra elosztva, ezzel megelőzhetjük, hogy a mintát ismételtelen felolvasszuk és visszafagyasszuk. A minta felolvasztását szobahőn kell végezni.
- Ha a mintában a mérendő anyag koncentrációja nagyobb, mint a legmagasabb kalibrátor értéke, a mintát meg kell hígítani foszfátpufferben.

Magzatvíz minták

- A mintát adalékanyagot nem tartalmazó száraz csőben kell gyűjteni.
- A magzatvíz mintát 2-8 °C között kell tárolni, ha 24 órán belül feldolgozzuk. A mintát fagyaszttva tárolhatjuk <-18 °C-on (maximum 2 hónapig) vagy <-80 °C-on (maximum 1 évig) egyenlő adagokra elosztva, ezzel megelőzhetjük, hogy a mintát ismételtelen felolvasszuk és visszafagyasszuk. A minta felolvasztását szobahőn kell végezni.
- A mérést megelőzően a magzatvíz mintát foszfát pufferben 1:100 arányban meg kell hígítani.

SZÁLLÍTOTT ANYAGOK

A kitben található összes reagens - a kit 2-8 °C-on történő tárolása esetén – a címkén jelzett lejárati ideig megőrzi stabilitását. A csövek címkéjén jelzett lejárati idők a gyártó részére szolgáltatóknak információt az adott komponens hosszú távú eltarthatóságával kapcsolatban. Kérjük ezt az adatot ne vegyék figyelembe!

A reagensek feloldás vagy hígítás utáni tárolási feltételeit lásd az Eljárás című fejezetben.

Kit az AFP meghatározásához, 100 cső (Cat. # IM1441)

Anti-AFP monoclonalis ellenanyaggal borított csövek: 2 x 50 cső (használatkész)

Monoclonalis ¹²⁵I-jelölt anti-AFP ellenanyag: 1 x 22 mL fiola (használatkész).

Az ampullák marha szérumban levő 320 kBq aktivitásértékű ¹²⁵I-jelölt immunglobulint (aktivitásérték a gyártás időpontjában), Na-azidot (<0,1%) és festéket tartalmaznak.

AFP kalibrátorok: 6 x 0,5 mL ampulla (használatkész).

A kalibrátor ampullák 0 – kb. 400 IU/mL AFP-t tartalmaznak Na-aziddal (<0,1%) kevert marha szérumban. A pontos koncentráció minden egyes ampulla címkéjén megtalálható. A kalibrátorokat az Alfa-fótoprotein, Human 72/225 nemzetközi standardjének segítségével kalibrálták be (1 IU WHO = 1.21 ng AFP).

Kontroll minták: 2 fiola (líofolezett)

Az ampullák líofolezett humán szérumban levő AFP-t tartalmaznak. A beoldás után kapott koncentráció értéke a kiegészítésben található.

Foszfát puffer: 1 x 30 mL fiola; használatkész

Az ampullák marha szérumban albuminnal kiegészített puffert tartalmaznak.

Mosó oldat (20x): 1 x 50 mL-es cső

Koncentrált oldat, melyet használat előtt hígítani kell.

Kit az AFP meghatározásához, 400 cső (Cat. # IM3285)

Anti-AFP monoclonalis ellenanyaggal borított csövek: 8 x 50 cső (használatkész).

Monoclonalis ¹²⁵I-jelölt anti-AFP ellenanyag: 4 x 22 mL fiola (használatkész).

AFP kalibrátorok: 6 x 0,5 mL ampulla, (használatkész).

Kontroll minták: 2 fiola (líofolezett)

Foszfát puffer: 4 x 30 mL fiola; használatkész

Mosóoldat (20 x): két 50 mL-es üveg

SZÜKSÉGES, DE NEM SZÁLLÍTOTT ANYAGOK

A standard laboratóriumi felszerelésen kívül az alábbiak szükségesek:

- mikropipetta (50 µL)
- félautomata pipetták (150 µL, 200 µL, 2 mL)
- vortex
- horizontális vagy körkörös rázógép
- leszívó rendszer
- ¹²⁵I mérésére alkalmas gamma számláló

ELJÁRÁS

A reagensek előkészítése

Hagyjuk, hogy az összes reagens felvegye a szobahőmérsékletet!

A kontrol minták beoldása

A fiola tartalmát a címkén feltüntetett mennyiségű desztillált vízben feloldjuk. Várjunk 10 percig, majd a fiola tartalmát óvatosan keverjük össze, hogy a szétmérés előtti habképződést megelőzzük. Az így elkészített oldatokat egyenlő részekre osztva < -18 °C-on tároljuk a kit lejárati idejének végéig.

A mosóoldat elkészítése

Öntsük az üveg tartalmát 950 mL of desztillált vízbe és jól keverjük össze. A hígított oldat 2-8 °C-on tartva a kit lejárati idejéig használható.

A vizsgálat menete összefoglalva

Hagyjuk, hogy az összes reagens felvegye a szobahőmérsékletet!

1. lépés Első inkubálás	2. lépés Mosás
Az antitesttel fedett csövekhez egymás után adjuk hozzá: 50 µL kalibrátor vagy minta és 150 µL foszfát puffer. Keverje össze. Inkubáljuk 15 percig 18-25 °C-on >280 rpm rázatással.	Óvatosan távolítsuk el minden egyes cső tartalmát. Adjunk hozzá 2 mL mosó folyadékot és azt is óvatosan távolítsuk el.

3. lépés Második inkubálás	4. lépés Mosás és számolás
Adjunk 200 µL nyomjelzőt minden egyes csőhöz. Keverje össze. Inkubáljuk 30 percig 18-25 °C-on >280 rpm rázatással.	Óvatosan távolítsuk el minden egyes cső tartalmát. (két csövet kivéve, a teljes (T) aktivitás meghatározásához). Moszuk a csöveket 2 mL mosó folyadékkal, majd azt is óvatosan távolítsuk el. Mérje a kötött (B) és totál (T) aktivitást (esemény/perc) 1 percig.

*Mérjük 200 µL nyomjelzőt a két csőhöz, hogy megkapjuk a teljes beütésszámot (total esemény/perc).

EREDMÉNYEK

Az eredményeket a standard görbéből interpolációval kapjuk meg. A görbe és a minták lemerésével egyidőben lemerített kalibrátorok segítségével meghatározzuk a mintákban levő AFP mennyiségét.

Standard görbe

A Használati Útmutatóban található eredményeket log-log görbeillesztéses módszerrel ("spline" eljárás) számítottuk ki. A mért radioaktivitás értékeit (esemény/perc_{kal} – esemény/perc_{kal,0}) függőleges, a kalibrátorok AFP koncentrációját (IU/mL) a vízszintes tengelyen tüntettük fel. Egyéb adtértelelési eljárások kissé eltérő eredményt adhatnak.

Teljes aktivitás: 107.924 esemény/perc				
Kalibrátorok	IU/mL	esemény/ perc (n=3)	B/T (%)	esemény/ perc _{kal} – esemény/ perc _{kal,0}
0	0	20	0,02	-
1	3	2096	1,83	2076
2	10	6511	5,68	6491
3	40	22 881	20,0	22 861
4	150	61 576	53,7	61 556
5	400	94 180	82,2	94 160

(A standard görbe csak minta, számításhoz nem használható)

Minták

Minden egyes szérumban illetve magzatvíz mintán esetén keressük meg a megfelelő (esemény/perc_{Mintake} – esemény/perc_{kal,0}) értéket a standard görbe függőleges tengelyén, és a vízszintes tengelyen olvassuk le a minta IU/mL egységben megadott AFP koncentrációját. A hígított minta koncentrációját a hígítási faktoral kell korrigálni.

Az IU/mL egységben megadott értéket számítsuk át ng/mL egységbe 1.21.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

Onkológia - normal AFP szérumban koncentrációk

Javasoljuk, hogy minden laboratórium készítse el a saját normál érték táblázatát. Az eredmények a beteg teljes klinikai képének (klinikai anamnézis, egyéb vizsgálatok eredményei, más releváns információk) tükrében értelmezhetők.

Az alábbi eredmények egészséges egyéneken elvégzett vizsgálatból származnak. A szérumban AFP koncentrációk 58 egészséges férfi és 36 egészséges nő vizsgálati eredményeiből származnak.

	Minták száma	Konc. tartomány (IU/mL)	Átlag (IU/mL)
Férfi	58	0,46 - 6,41	3,12
Nő	36	0,49 - 9,84	1,94

A kongenitális megbetegedések szűrése

Az eredmények a beteg teljes klinikai képének (klinikai anamnézis, egyéb vizsgálatok eredményei, más releváns információk) tükrében értelmezhetők.

Javasoljuk, hogy a laboratórium a Down szindróma kockázatának felméréséhez használt eljárásának segítségével készítse el saját referencia érték táblázatát Ezen összefüggés nélkül, egy önmagában álló AFP eredmény nem diagnosztikus értékű.

MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

A megfelelő laboratóriumi eljárásokat (GLP) szabályozó követelmények szerint időről időre kontrol mintákkal kell ellenőrizni, hogy az eredmények megfelelőek-e. A kontrol mintákat pontosan a vizsgálati mintáknak megfelelő

módon kell előkészíteni és lemérni. Ajánlatos az eredményeket megfelelő statisztikai módszerekkel kiértékelni.

Amennyiben a csomagolás sérült, vagy az adatok a kit teljesítőképességének romlására utalnak, kérjük, hogy lépjen kapcsolatba országának Immunotech képviselőjével, vagy írjon a következő e-mail címre: imunochem@beckman.com

MINŐSÉGI JELLEMZŐK

(További részletek a Mellékletben)

A reprezentatív adatok kizárólag szemléltető jellegűek. A különböző laboratóriumok eredményei ettől eltérhetnek.

A mérés érzékenysége

Analitikai érzékenység: 0,11 IU/mL

Funkcionai érzékenység: 0,2 IU/mL

Specifitás

A kitben található ellenanyagok nem lépnek reakcióba a humán szérumban albuminnal, a transferrinnel, a humán IgG-vel, a hemoglobinnal vagy a bilirubinnal.

Pontosság

Intra-assay

Ugyanabban a kísérletsorozatban 25 párhuzamos minta vizsgálatával a szérumban mintákra vonatkozó variációs koefficiens 6,9%, vagy ez alatti érték volt a szérumban és 3,0%, vagy ez alatti érték volt a magzatvízben.

Inter-assay

Mintákat duplikátban vizsgáltak 10 különböző sorozatban. A variációs koefficiens 6,3%, vagy az alatti érték volt, a szérumban és 10,9%, vagy ez alatti érték volt a magzatvízben.

Valósság

Hígítási teszt

Magas koncentrációjú minták hígításával kapott eredmények alapján az eredeti minta koncentrációjának visszanyerési százaléka 86% vagy 111% között volt a szérumban és 92% vagy 112% között volt a magzatvízben.

Visszanyerési teszt

Az AFP-t ismert, de alacsony koncentrációban tartalmazó mintáknál az eredeti érték visszanyerési százaléka 88% vagy 108% között volt, a szérumban és 100% vagy 119% között volt a magzatvízben.

Mérési tartomány (az analitikai érzékenység értékétől a legmagasabb kalibrátorig): 0.11 – kb. 400 IU/mL.

KORLÁTOZÁSOK

A jelen leírásban foglalt előírások be nem tartása jelentős mértékben befolyásolhatja az eredményeket.

Hemolizált, icterusos vagy lipémiás mintát ne használjanak.

Antitesteket tartalmazó tesztek esetén fennáll a páciens mintában esetleg meglévő heterofil antitestek interferenciájának lehetősége. Azok a páciensek, akik rendszeresen állatokkal érintkeznek vagy kezelés vagy diagnosztikus eljárás során immunglobulinokat vagy immunglobulin fragmenteket kaptak, antitestek (pl. HAMA) termelődéssel reagálhatnak, melyek az immunoassay-vel interferálnak.

Ezek okozhatnak hibás eredményeket. Fokozott körültekintéssel értékelje az olyan páciensektől származó mintákat, akiknél valószínűsíthető, hogy ilyen antitestek vannak jelen.

Visszahajlási hatás

A kétlépéses teszt kivitelezése során nem tapasztaltuk a visszahajlási hatást.

AFP IRMA KIT

REF IM1441, IM3285

IMMUNORADIOMETRYCZNA METODA DO OZNACZANIA IN VITRO

AFP W LUDZKIEJ SUROWICY LUB PŁYNIE OWODNIOWYM

Do użytku diagnostycznego *in vitro*

ZASADA

Do oznaczania AFP zastosowano dwu stopniową „kanapkową” metodę, w której użyto dwa mysie przeciwciała monoklonalne skierowane przeciw dwom różnym epitopom cząsteczki. Próby badane i kalibratory inkubuje się w probówkach pokrytych pierwszym przeciwciałem. Po pierwszej inkubacji płynna zawartość probówek jest odciągana, a AFP obecne w próbkach jest wiązane podczas inkubacji z drugim przeciwciałem znakowanym ¹²⁵J. Następnie zawartość probówek jest odciągana a związana radioaktywność jest mierzona w liczniku gamma. Zawartość AFP w danej próbce jest odczytywana z krzywej standardowej. Stężenie AFP w próbce jest wprost proporcjonalne do jej radioaktywności.

Otrzymane dane mogą być użyte:

- w onkologii
- w połączeniu ze stężeniem hCG i niesprzężonego estriolu do oceny zagrożenia zespołem Downa (trisomia 21). Ocena wyników powinna być weryfikowana w oparciu o rozkład wielowariancyjny krzywej Gausa (Wald et al.; Brit.med.,J. 297, 883-887, 1988). Zdecydowanie zaleca się używanie wyłącznie zatwierdzonego oprogramowania (z oznaczeniami CE) przeznaczonego do szacowania niebezpieczeństwa wystąpienia trisomii 21 np.:program alpha™ (alpha jest znakiem firmowym Logical Medical Systems).

OSTRZEŻENIE I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Uwagi ogólne:

- Nie należy mieszać odczynników z różnych serii produkcyjnych.
- Fiolki z kalibratorami i kontrolami nie powinny pozostawać otwarte przez czas dłuższy niż jest to konieczne aby uniknąć nadmiernego odparowania zawartości fiołki.
- Krzywa standardowa musi być wykonana podczas każdego oznaczania.
- Zalecane jest wykonywanie oznaczeń w duplikatach.
- Każda próbka może być użyta tylko raz.

Podstawowe zasady bezpieczeństwa podczas postępowania z promieniowaniem

Podstawowe zasady bezpieczeństwa podczas postępowania z promieniowaniem Wejście w posiadanie, używanie, utylizacja i transfer materiałów radioaktywnych powinny być zgodny z prawem obowiązującym w kraju użytkownika. Przestrzeganie podstawowych zasad bezpieczeństwa przy stosowaniu materiałów radioaktywnych powinno zapewnić odpowiednią ochronę:

- Nie jeść, nie pić, nie palić wyrobów tytoniowych, nie aplikować kosmetyków w obecności materiałów radioaktywnych.
- Nie pipetować radioaktywnych roztworów przy użyciu ust.
- Unikać wszelkiego kontaktu z materiałami radioaktywnymi poprzez stosowanie rękawic i ubrań ochronnych.
- Wszystkie czynności przy użyciu materiałów radioaktywnych powinny być wykonywane w przeznaczonym do tego celu miejscu, znajdującym się w odpowiedniej odległości od korytarzy i innych pomieszczeń.
- Materiały radioaktywne powinny być przechowywane w zabezpieczonym pojemniku.
- Należy zapisać datę przyjęcia radioaktywnych produktów, a czas ich przechowywania powinien być zgodny z odpowiednim terminem.
- Sprzęt laboratoryjny i naczynia, które uległy kontaminacji powinny być oddzielone od pozostałych, aby nie spowodować kontaminacji krzyżowej różnymi radioizotopami
- W sytuacji zanieczyszczenia radioizotopami i/lub zgubieniu radioaktywnego materiału powinno być powzięte postępowanie zgodne z prawem obowiązującym w kraju użytkownika.

- Radioaktywne odpady powinny być przechowywane zgodnie z przepisami obowiązującymi w kraju użytkownika.

Azydek sodu

Niektóre odczynniki zawierają azydek sodu jako środek konserwujący. Azydek sodu wchodzi w reakcje z ołowiem, miedzią lub mosiądzem, tworząc wybuchowe metale azydki. W związku z tym odczynniki zawierające azydek sodu powinny być rozcieńczane dużą ilością wody przed wylaniem ich do kanalizacji.

Materiały pochodzące od człowieka

Materiały pochodzące od człowieka użyte w tym zestawie mają wynik negatywny po badaniach na obecność przeciwciał HIV1 i HIV2, przeciwciał przeciw HCV, powierzchniowego antygenu Hepatitis B (HBsAg). Mimo to powinny być traktowane jak materiał zakaźny. Nie ma testu dającego pełną gwarancję nieobecności wirusa. Należy obchodzić się z tym zestawem z zachowaniem wszelkich środków ostrożności.

Wszystkie surowice należy tak traktować jakby były materiałem do zakażenia hepatitis lub AIDS, a niszczenie odpadów powinno być przeprowadzone zgodnie z przepisami obowiązującymi w danym kraju.

KLASYFIKACJA ZAGROZEŃ WG GHS

Wash Solution (20X)

NIEBEZPIECZEŃSTWO



H360

Może działać szkodliwie na płodność lub na dziecko w łonie matki.

P201

Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi środkami ostrożności.

P280

Stosować rękawice ochronne, odzież ochronną i ochronę oczu/ochronę twarzy.

P308+P313

W przypadku narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
Kwas borowy 0,1 - 0,3%
Dziesięciowodny boran sodu 0,1 - 0,3%

SDS

Karta charakterystyki jest dostępna w witrynie techdocs.beckmancoulter.com

ZBIERANIE PRÓB, PRZYGOTOWYWANIE, ROZCIEŃCZANIE I PRZECHOWYWANIE

Próbki surowicy

- Krew pobierać do probówek bez dodatków.
- Odwirować surowicę.
- Probki surowicy powinny być przechowywane w 2-8°C, jeżeli oznaczenie zostanie przeprowadzone w ciągu 24 godzin. Jeżeli oznaczenie będzie przeprowadzone później, to należy próbki przechowywać podzielone zamrożone w <-18°C (najdłużej 2 miesiące) lub najlepiej w <-80°C (najdłużej 1 rok), aby nie powtarzać rozmrażania i zamrażania tej samej próbki. Rozmrażanie próbek musi być przeprowadzane w temperaturze pokojowej.
- Jeżeli próbki mają stężenie wyższe niż najwyższy kalibrator, muszą być rozcieńczone buforem fosforanowym.

Próbki płynu owodniowego

- Pobrać płyn owodniowy do suchych probówek bez dodatków.
- Probki płynu owodniowego powinny być przechowywane w 2-8°C, jeżeli oznaczenie zostanie przeprowadzone w ciągu 24 godzin. Jeżeli oznaczenie będzie przeprowadzone później, to należy próbki przechowywać podzielone zamrożone w <-18°C (najdłużej 2 miesiące) lub najlepiej w <-80°C (najdłużej 1 rok), aby nie powtarzać rozmrażania i zamrażania tej samej próbki. Rozmrażanie próbek musi być przeprowadzane w temperaturze pokojowej.

- Próbkę płynu owodniowego rozcieńcza się 1: 100 rozcieńczone w buforze fosforanowym przed oznaczeniem.

MATERIAŁY DOSTARCZONE

Wszystkie odczynniki zestawu są stabilne zgodnie z datą ich ważności umieszczoną na opakowaniu, pod warunkiem przechowywania ich w temperaturze 2-8°C. Daty ważności są wydrukowane tylko na etykietach fiolek z przedłużonym okresem składowania składników przez producenta. Nie należy brać ich pod uwagę.

Warunki przechowywania odczynników po upływie czasu rekonstrukcji lub rozcieńczeniu są podane w akapicie Procedura.

Zestaw do oznaczania AFP, 100 próbek (Ka.# IM1441)

Próbki pokryte przeciwciałem monoklonalnym przeciw AFP: 2x 50 próbek (gotowy do użycia)

Znakowane ¹²⁵J przeciwciała monoklonalne przeciw AFP: 1 fiołka 22 mL (gotowy do użycia)

Fiołka zawiera 320 kBq, w dniu produkcji, znakowanego ¹²⁵J immunoglobuliny w buforze zawierającym albuminę z bydlęcej surowicy, azydek sodu (<0,1%) i barwnik.

Kalibratory AFP: 6 fiolek po 0,5 mL (gotowy do użycia)

Fiolki z kalibratorami zawierają od 0 do około 400 j.m./mL AFP w bydlęcej surowicy i azydek sodu (<0,1%). Właściwe stężenia są podane na etykietach znajdujących się na każdej fiołce. Kalibratory są wykalibrowane z użyciem Międzynarodowego Standardu Alfa-fetoproteiny, Ludzki 72/225. (1IU WHO = 1.21 ng AFP)

Surowica kontrolna: 2 fiołki (zliofilizowana)

Fiolki zawierają liofilizowane AFP w ludzkiej surowicy. Oczekiwany zakres wartości stężeń podano w dodatku.

Bufor fosforanowy: 1 fiołka 30 mL; (gotowy do użycia)

Fiołka zawiera bufor z albuminą z surowicy bydlęcej.

Płyn do płukania (20x): jedna 50 mL fiołka

Koncentrat musi być rozcieńczony przed użyciem.

Zestaw do oznaczania AFP, 400 próbek (Ka.# IM3285)

Próbki pokryte przeciwciałem monoklonalnym przeciw AFP: 8 x 50 próbek (gotowy do użycia)

Znakowane ¹²⁵J przeciwciała monoklonalne przeciw AFP: 4 fiołki 22 mL (gotowy do użycia)

Kalibratory AFP: sześć fiolek po 0,5 mL (gotowy do użycia)

Surowica kontrolna: 2 fiołki (zliofilizowana)

Bufor fosforanowy: cztery fiołki 30 mL; (gotowy do użycia)

Roztwór do przemywania (20x): dwie fiołki 50 mL

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZANE

Poza standardowym wyposażeniem laboratorium wymagane są następujące urządzenia:

- Dokładna pipeta (50 µL).
- Półautomatyczna pipeta (150 µL, 20 µL, 2 mL).
- Mieszadło wirowe („vortex“)
- Pozioma lub orbitalna wytrząsarka.
- System odciągający
- Licznik gamma do 125J

PROCEDURA

Przygotowanie odczynników

Wszystkie odczynniki należy doprowadzić do temperatury pokojowej.

Odtworzenie prób kontrolnych

Zawartość fiolek jest odtwarzana przez dodanie wody destylowanej, której objętość podana jest na etykietach fiolek. Następnie należy odczekać 10 minut i delikatnie zamieszać, aby uniknąć spienienia przed dozowaniem. Można przechowywać roztwór surowicy kontrolnej w <-18°C zgodnie z datą ważności zestawu.

Przygotowanie roztworu do płukania

Umieścić zawartość fiołki w 950 mL wody destylowanej i zamieszać. Płyn może być przechowywany w 2-8°C, zgodnie z datą ważności zestawu.

Streszczenie procedury oznaczania

Wszystkie odczynniki należy doprowadzić do temperatury pokojowej.

Etap 1 1-sza inkubacja	Etap 2 Płukanie
Do pokrytych próbek dodać kolejno: 50 µL kalibrator lub próbki i 150 µL buforu fosforanowego. Zamieszać. Inkubować 15 min. w 18-25°C z wytrząsaniem przy >280 rpm.	Odciągnąć starannie zawartość próbek. Dodać 2 mL płynu do płukania i odciągnąć dokładnie.

Etap 3 2- ga inkubacja	Etap 4 Płukanie i zliczanie
Dodać 200 µL znacznika do wszystkich próbek. Zamieszać. Inkubować 30 min. w 18-25°C z wytrząsaniem przy >280 rpm.	Odciągnąć starannie zawartość każdej próbki (z wyjątkiem 2 próbek z całkowitą aktywnością T). Przeplukać próbki 2 mL płynu do płukania i odciągnąć dokładnie. Zliczać związane cpm (B) i całkowite cpm (T) 1 min.

*Dodaj 200 µL znacznika do 2 dodatkowych próbek, aby otrzymać całkowite cpm.

WYNIKI

Wyniki należy odczytać z krzywej standardowej. Krzywa standardowa służy do oznaczania stężenia AFP w próbkach mierzonych w tym samym czasie, co kalibratory.

Krzywa standardowa

Zestawienie wyników jest przygotowane w oparciu o krzywą log-log przystosowaną („spline” mode) z zaznaczeniem radioaktywności (cpm_{kal} – cpm_{kalo}) na osi pionowej i stężenie AFP w kalibratorach na osi poziomej j.m./mL). Zastosowanie innych metod do opracowania danych może dać nieco różne rezultaty.

Całkowita aktywność: 107.924 cpm				
Kalibratory	j.m./mL	cpm (n=3)	B/T (%)	(cpm _{kal} – cpm _{kalo})
0	0	20	0,02	-
1	3	2096	1,83	2076
2	10	6511	5,68	6491
3	40	22 881	20,0	22 861
4	150	61 576	53,7	61 556
5	400	94 180	82,2	94 160

(Przykładowe wartości do krzywej wzorcowej, nie do zastosowania)

Próbki

Odnajdź wartość (cpm_{próbki} – cpm_{kalo}) dla każdej surowicy lub płynu owodniowego na osi pionowej i odczytaj odpowiadające tej wartości stężenie AFP, znajdujące się na osi poziomej j.m./mL. Stężenie próbek rozcieńczonych pomnóż przez współczynnik rozcieńczenia.

Aby zamienić j.m./mL na ng/mL pomnóż przez 1.21.

OCZEKIWANE WARTOŚCI

Onkologia – normalne stężenie AFP w surowicy

Sugeruje się, aby w każdym laboratorium ustalono własny zakres normalnych wartości. Rezultaty powinny być interpretowane w świetle całkowitego obrazu klinicznego pacjenta, z uwzględnieniem historii choroby i innych odpowiednich informacji.

Poniższe wartości otrzymano tylko od osób zdrowych. Stężenie AFP zamieszczone w tabeli otrzymano od zdrowych dawców: 58 mężczyzn i 36 kobiet.

	Liczba próbek	Zakres stężeń (j.m./mL)	Mediana (j.m./mL)
Mężczyźni	58	0,46 - 6,41	3,12
Kobiety	36	0,49 - 9,84	1,94

Badania skriningowe wad wrodzonych

Wyniki powinny być interpretowane w świetle całkowitego obrazu klinicznego pacjenta, włączając historię choroby, dane z innych testów i inne stosowne informacje.

Laboratorium powinno ustalić swoje własne wartości referencyjne, które mogłyby być wybrane do oceny zagrożenia zespołem Downa. Zgodnie z tym kontekstem izolowany wynik AFP nie jest przydatny diagnostycznie.

KONTROLA JAKOŚCI

Dobrze funkcjonujące laboratorium dla swej wiarygodności stosuje regularnie wewnętrzną kontrolę jakości otrzymanych wyników. Te próbki muszą być przygotowywane i oznaczane zgodnie z procedurą. Ich przydatność do oceny każdego zestawu będzie właściwa przy zastosowaniu odpowiedniej analizy statystycznej.

W przypadku uszkodzenia paczki lub jeżeli opracowanie otrzymanych wyników sprawia trudności proszę się kontaktować z miejscowym dystrybutorem lub pod adresem E-mail: imunochem@beckman.com

CHARAKTERYSTYKA TESTU

(Po więcej wiadomości zajrzyj do zestawu danych w "DODATKU")

Reprezentatywne dane są przedstawiane tylko do celów ilustracyjnych. Uzyskiwane parametry mogą się różnić w zależności od laboratoriów.

Czułość

Analalityczna czułość: 0,11 j.m./mL

Funkcjonalna czułość: 0,2 j.m./mL

Specyficzność

Przeciwciała użyte w zestawie nie wykazały reaktywności krzyżowej w stosunku do albuminy z ludzkiej surowicy, ludzkiej IgG, hemoglobiny oraz bilirubiny.

Kontrola precyzji

Wewnątrz zestawu

Próbki z tej samej serii były oznaczane 25 razy. Współczynniki wariancji były poniżej lub równe wartości do 6,9% dla surowicy i 3,0% dla płynu owodniowego.

Między oznaczeniami

Próbki były oznaczane w duplikatach w 10 różnych seriach. Współczynniki wariancji były poniżej lub równały się wartości do 6,3% dla surowicy i 10,9% dla płynu owodniowego.

Kontrola dokładności

Test rozcieńczania

Próbki o wysokim stężeniu były seryjnie rozcieńczone. Procentowe odzyski otrzymano między 86% i 111% dla surowicy i między 92% i 112% dla płynu owodniowego.

Test odzysku

Próbki o niskim stężeniu były dodawane do próbek o znanej zawartości AFP. Procentowe odzyski otrzymano między 88% a 108% dla surowicy i między 100% i 119% dla płynu owodniowego.

Zakres pomiarowy (od czułości analitycznej testu do stężenia najwyższego kalibratora): 0.11 do około 400 j.m./mL.

OGRANICZENIA

Niestosowanie się do instrukcji załączonej do zestawu może znacznie wpływać na wyniki.

Nie używać zhemolizowanych, żółtaczkowych i lipemicznych próbek.

W przypadku oznaczeń z wykorzystaniem przeciwciał istnieje możliwość zakłóceń spowodowanych przez obce przeciwciała w próbce pacjenta. Pacjenci, którzy byli regularnie wystawieni na kontakt ze zwierzętami lub byli poddawani immunoterapii lub zabiegom diagnostycznym z użyciem immunoglobulin lub fragmentów immunoglobulin, mogą wytworzyć przeciwciała (np. HAMA) zakłócające wyniki oznaczeń immunologicznych.

Takie przeciwciała zakłócające mogą prowadzić do uzyskania błędnych wyników. Należy starannie przeanalizować wyniki u pacjentów z podejrzeniem obecności tych przeciwciał.

Efekt wysokiej dawki (Hook effect)

Nie zaobserwowano efektu wysokiej dawki przy zastosowaniu procedury dwustopniowej.

AFP IRMA KIT

REF IM1441, IM3285

IMUNORADIOMETRICKÉ IN VITRO STANOVENÍ ALFAFETOPROTEINU (AFP)

V LIDSKÉM SÉRU NEBO PLODOVÉ VODĚ Pro diagnostické účely *in vitro*

PRINCIP

V soupravě jsou použity myší monoklonální protilátky proti dvěma různým epitopům molekuly AFP. Imunoradiometrické stanovení AFP probíhá ve dvou krocích. Nejprve se ve zkumavkách potažených první monoklonální protilátkou inkubují vzorky nebo kalibrátory. Po inkubaci se obsah zkumavek odsaje a napipetuje se do nich druhá protilátka značená ¹²⁵I. Po druhé inkubaci se odsaje obsah zkumavek a vymyje se nenavázaná značená protilátka. Vázaná aktivita ¹²⁵I se měří na gama-čítači. Koncentrace alfafetoproteinu v kalibrátorech a vzorcích je přímo úměrná změřené radioaktivitě. Kalibrační křivka se sestrojí na základě stanovení sérových kalibrátorů a hodnoty AFP přítomného ve vzorcích se odečtou z této křivky.

Použití výsledků:

- v onkologii,
- výsledky stanovení slouží spolu s hodnotami hCG a nekonjugovaného estriolu, pro odhad rizika výskytu Downova syndromu (trisomie 21) v prenatalním screeningu. Postup byl ověřen na základě multivariační Gaussovské distribuční analýzy (Wald et al.: Brit Med J 297, 883 – 887; 1988). Doporučuje se použít validovaný software (CE) vyvinutý za účelem vyhodnocení rizika trizomie 21, například software alphaTM (alpha je obchodní značka společnosti Logical Medical Systems).

VAROVÁNÍ A OPATŘENÍ

Obecné poznámky:

- Nemíchejte substance ze souprav různých šarží.
- Lahvičky s kalibrátory a kontrolními vzorky by měly být otevřené co nejkratší dobu, aby nedošlo k nežádoucímu odpaření roztoku.
- Pro každou novou sérii analýz je nutné provést novou kalibraci.
- Doporučuje se provádět stanovení v duplikátech.
- Zkumavky jsou pouze na jedno použití.

Základní pravidla radiační bezpečnosti

Tento radioaktivní materiál mohou přijímat, skladovat a používat pouze pracoviště, která splňují platné zákonné předpisy upravující podmínky pro bezpečné nakládání s otevřenými radionuklidovými zářiči. Při práci s radioaktivními látkami dodržujte následující pravidla:

- Všechny radioaktivní látky musí být skladovány v původním balení a jen na místech k tomu určených.
- Příjem a spotřeba radioaktivních látek musí být evidována.
- Práce s radioaktivními látkami musí být prováděny pouze ve vyhrazených prostorách.
- Pipetování nesmí být prováděno ústy.
- V laboratořích určených k práci s radioaktivními látkami je zakázáno jíst, pít, kouřit, líčit se a pod.
- Obalový materiál, který není kontaminován, je možno odložit do běžného odpadu pouze po odstranění varovných nápisů a značek.
- Povrch pracovních stolů, který by mohl být kontaminován, je třeba pravidelně kontrolovat. Všechno laboratorní sklo, které bylo použito pro práci s radioaktivními látkami, musí být řádně dekontaminováno a proměřeno před dalším použitím.
- V případě kontaminace nebo úniku radioaktivního materiálu postupujte podle stanovených předpisů.
- Radioaktivní odpad likvidujte v souladu s platnými zákony a předpisy.

Azid sodný

Některé substance jsou konzervovány azidem sodným. Azid sodný může reagovat s olovem, mědí nebo mosazí za vzniku příslušných výbušných azidů. Proto likvidované reagentie splachujte velkým množstvím vody.

Materiál lidského původu

Materiál lidského původu obsažený v reagentiích této soupravy měl negativní test na přítomnost protilátek proti viru HIV 1 a 2, viru hepatitidy C

a proti povrchovému antigenu hepatitidy B (HBsAg). Žádná z dostupných metod nemůže dát stoprocentní jistotu neinfekčnosti. Je tedy nutné pracovat s těmito reagentiemi jako s potenciálně infekčními.

Se všemi krevními vzorky musí být manipulováno jako s potenciálně infekčními (hepatitis, nebo AIDS). Veškerý vzniklý odpad je třeba likvidovat podle platných předpisů.

KLASIFIKACE NEBEZPEČÍ PODLE GHS

Wash Solution (20X)

NEBEZPEČÍ



H360

Může poškodit reprodukční schopnost nebo plod v těle matky.

P201

Před použitím si obstarejte speciální instrukce.

P280

Používejte ochranné rukavice, ochranný oděv a ochranné brýle/obličejový štít.

P308+P313

PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

Kyselina boritá 0,1 - 0,3%
Boritan sodný, dekahydrát 0,1 - 0,3%



Bezpečnostní list je k dispozici na adrese
techdocs.beckmancoulter.com

SBĚR A PŘÍPRAVA, SKLADOVÁNÍ A ŘEDĚNÍ VZORKŮ

Odběr a zpracování vzorků séra

- Odebírejte vzorky krve do zkumavek bez aditiv.
- Oddělte frakci séra.
- Vzorky séra lze uchovávat při 2-8 °C, jestliže bude stanovení provedeno do 24 hodin. Při delším uchovávání je nutno vzorky skladovat v alikvotech při <-18 °C (maximálně 2 měsíce) nebo při <-80 °C (maximálně 1 rok). Zabraňte opakovanému zmrazování a rozmrazování. Rozmrazování provádějte při laboratorní teplotě.
- Vzorky, v nichž je koncentrace vyšší než v nejvyšším kalibrátoru, je nutno zředit fosfátovým pufrům.

Vzorky plodové vody

- Odeberte vzorky plodové vody do zkumavek bez aditiv.
- Vzorky plodové vody lze uchovávat při 2-8 °C, jestliže bude stanovení provedeno do 24 hodin. Při delším uchovávání je nutno vzorky skladovat v alikvotech při <-18 °C (maximálně 2 měsíce) nebo při <-80 °C (maximálně 1 rok). Zabraňte opakovanému zmrazování a rozmrazování. Rozmrazování provádějte při laboratorní teplotě.
- Vzorky plodové vody zředte 100x fosfátovým pufrům.

POSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Všechny reagentie v soupravě jsou stabilní do data expirace, uvedeného na štítku krabice, jestliže jsou skladovány při 2-8 °C. Data expirací uvedená na štítcích jednotlivých složek se vztahují pouze k dlouhodobému skladování u výrobce před kompletací souprav. Neberte na ně tedy, prosím, ohled.

Skladovací podmínky pro zředěné nebo rekonstituované reagentie jsou uvedeny v odstavci Postup.

Souprava pro stanovení AFP, 100 zkumavek (kat. č. IM1441)

Zkumavky potažené monoklonální protilátkou proti AFP: 2x 50 kusů (připraveny k použití)

Monoklonální protilátka proti AFP, značená ¹²⁵I: 1 lahvička (22 ml); (připravena k použití).

Lahvička obsahuje ke dni výroby méně než 320 kBq značeného imunoglobulinu v pufru s BSA, azidem sodným (<0,1 %) a barvivem.

Kalibrátory: 6 lahviček (po 0,5 ml); připraveny k použití.

Lahvičky obsahují AFP o koncentracích od 0 do přibližně 400 IU/ml v hovězím séru s azidem sodným (<0,1 %). Přesné koncentrace jsou uvedeny na štítcích lahviček. Kalibrátory jsou kalibrovány na mezinárodní standard Alphafetoprotein, Human 72/225. 1 IU WHO = 1,21 ng AFP.

Kontrolní vzorky: 2 lahvičky (lyofilizované).

Vzorky obsahují AFP lyofilizované v lidském séru. Koncentrační rozmezí očekávaných hodnot jsou uvedeny na dodatku návodu.

Fosfátový pufr: 1 lahvička (30 ml); připraven k použití.

Lahvička obsahuje pufr s hovězím sérovým albuminem.

Promývací roztok 20x: 1 lahvička 50 ml

Koncentrovaný roztok musí být před použitím zředěn.

Souprava pro stanovení AFP, 400 zkumavek (kat. č. IM3285)

Zkumavky potažené monoklonální protilátkou proti AFP: 400 kusů; připraveny k použití.

Monoklonální protilátka proti AFP, značená ¹²⁵I: 4 lahvičky (po 22 ml); připravena k použití.

Kalibrátory: 6 lahviček (po 0,5 ml); připraveny k použití

Kontrolní vzorky: 2 lahvičky (lyofilizované).

Fosfátový pufr: 4 lahvičky (po 30 ml); připraven k použití.

Promývací roztok (20x): dvě 50 ml lahvičky

VYŽADOVANÉ, ALE NEPOSKYTNUTÉ MATERIÁLY

Kromě obvyklého laboratorního zařízení je pro analýzu potřebné následující vybavení:

- přesná mikropipeta (50 µl)
- poloautomatická pipeta (150 µl, 200 µl a 2 ml)
- Vibrační míchadlo
- horizontální nebo orbitální třepačka
- vývěva
- gama-čítač, kalibrován na 125I

POSTUP

Příprava reagensů

Vytemperujte všechny reagensy na laboratorní teplotu.

Příprava kontrolních vzorků

Obsah lahviček se rozpustí v objemu destilované vody, uvedeném na štítku. Po přidání vody nechte kontrolní vzorky volně rozpouštět 10 minut a potom lehce bez napěnění promíchejte. Rozpuštěné kontrolní vzorky lze skladovat při < -18 °C, do data expirace soupravy.

Příprava promývacího roztoku

Obsah lahvičky přidejte k 950 ml destilované vody a promíchejte. Zředěný roztok může být skladován při 2-8 °C do data expirace soupravy.

Postup stanovení

Vytemperujte všechny reagensy na laboratorní teplotu.

Krok 1 1. inkubace	Krok 2 Promytí
Do zkumavek potažených protilátkou postupně přidejte: 50 µl kalibrátoru, kontrolního nebo neznámého vzorku a 150 µl fosfátového pufru. Promíchejte. Inkubujte 15 minut při 18-25 °C za stálého třepání (>280 kmitů/min.).	Obsah zkumavek odsajte. Do zkumavek přidejte Přidejte 2 ml promývacího roztoku a obsah zkumavek pečlivě odsajte.

Krok 3 2. inkubace	Krok 4 Promytí a měření
Do zkumavek přidejte 200 µl radioindikátoru. Promíchejte. Inkubujte 30 min. při 18-25 °C za stálého třepání (>280 kmitů/min.).	Pečlivě odsajte obsah zkumavek (s výjimkou 2 zkumavek na stanovení celkové aktivity T). Promyjte 2 ml promývacího roztoku a roztok odsajte. Měřte po dobu 1 min. vázanou aktivitu (B) a celkovou aktivitu (T).

*Napipetujte po 200 µl radioindikátoru do 2 nepotažených zkumavek pro zjištění celkové aktivity (T).

VÝSLEDKY

Výsledky se získají interpolací z kalibrační křivky, která slouží pouze pro analýzu těch vzorků, které byly inkubovány společně s kalibrátory.

Kalibrační křivka

Výsledky uvedené v návodu byly získány v log-log zobrazení (s použitím funkce „spline“) vynesemím aktivity (cpm_{kal.} – cpm_{kal.0}) na osu y, a koncentrací AFP v kalibrátorech na osu x (IU/ml). Jiné vyhodnocovací metody mohou poskytovat odlišné výsledky.

Celková aktivita: 107.924 cpm				
Kalibrátory	IU/ml	cpm (n=3)	B/T (%)	cpm _{kal.} – cpm _{kal.0}
0	0	20	0,02	-
1	3	2 096	1,83	2 076
2	10	6 511	5,68	6 491
3	40	22 881	20,0	22 861
4	150	61 576	53,7	61 556
5	400	94 180	82,2	94 160

(Příklad typického stanovení, nepoužívejte pro výpočet.)

Vzorky

Najděte pro každý kontrolní nebo neznámý vzorek na ose y hodnotu (cpm_{vz.} – cpm_{kal.0}) a odečtěte odpovídající koncentrace AFP na ose x v IU/ml. Nalezené hodnoty ředěných vzorků je nutné vynásobit faktorem ředění.

Pro přepočítání IU/ml na ng/ml, vynásobte výsledky číslem 1,21.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Onkologie - normální sérové hodnoty AFP

Doporučujeme, aby si každá laboratoř stanovila vlastní normální hodnoty. Výsledky stanovení by měly být interpretovány ve světle celkového klinického obrazu pacienta včetně anamnézy, údajů z dalších testů a jiných vhodných informací.

Následující hodnoty zjištěné u zdravých jedinců mají pouze orientační charakter. Koncentrace AFP v séru uvedené v tabulce byly stanoveny v sérech 58 zdravých mužů a 36 zdravých žen.

	Počet vzorků	Rozmezí konc. (IU/ml)	Medián (IU/ml)
Muži	58	0,46 - 6,41	3,12
Ženy	36	0,49 - 9,84	1,94

Screening vrožených vývojových vad

Výsledky stanovení by měly být interpretovány ve světle celkového klinického obrazu pacienta včetně anamnézy, údajů z dalších testů a jiných vhodných informací.

Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní referenční hodnoty pomocí metody, vybrané pro stanovení rizika výskytu Downova syndromu. Mimo tento kontext nemají samostatné hodnoty AFP žádný diagnostický význam.

KONTROLA KVALITY

Správná laboratorní praxe předpokládá, že se kontrolní vzorky používají v každé kalibraci, aby se zajistila kontrola kvality získaných výsledků. Kontrolní vzorky musí být zpracovány stejným způsobem jako neznámé vzorky a k vyhodnocení výsledků se mají použít vhodné statistické metody.

V případech závažného poškození obalu, nebo jestliže získané výsledky nejsou ve shodě s analytickými parametry stanovení, kontaktujte prosím naše odborné pracovníky. E-mail: imunochem@beckman.com

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

(podrobnosti jsou uvedeny v příloze "APPENDIX")

Vzorová data slouží pouze k ilustrativním účelům. Výsledky získané v jednotlivých laboratořích se mohou lišit.

Mez detekce

Analytická citlivost: 0,11 IU/ml

Funkční citlivost: 0,2 IU/ml

Specifita

Protilátky používané v soupravě neprojevují zkřížené reakce s lidským sérovým albuminem, transferrinem, lidským IgG, hemoglobinem a bilirubinem.

Přesnost

Intra-assay

Přesnost intra-assay byla stanovena 25krát opakovanou analýzou. Hodnota variačních koeficientů byla menší nebo rovna 6,9 % pro sérum a 3,0 % pro plodovou vodu.

Inter-assay

Vzorky byly analyzovány duplikátech v 10 nezávislých analýzách. Hodnota variačních koeficientů byla menší nebo rovna 6,3 % pro sérum a 10,9 % pro plodovou vodu.

Správnost

Test ředění

Vzorky s vysokou koncentrací AFP byly ředěny a analyzovány. Naměřené hodnoty „recovery“ se pohybovaly v rozmezí 86 % až 111 % pro sérum a v rozmezí 92 % až 112 % pro plodovou vodu.

Test „recovery“

Ke vzorkům s nízkou hladinou AFP byla přidána séra o známé koncentraci AFP a vzorky byly analyzovány. Naměřené hodnoty „recovery“ se pohybovaly v rozmezí 88% až 108% pro sérum a v rozmezí 100% až 119% pro plodovou vodu.

Rozsah stanovení (od analytické citlivosti do nejvyššího kalibrátoru): 0,11 do přibližně 400 IU/ml.

OMEZENÍ

Nedodržení instrukcí uvedených v tomto návodu může vést k nesprávným výsledkům.

Nepoužívejte hemolyzované, ikterické ani lipemické vzorky.

U stanovení využívajících protilátky existuje možnost interference heterofilních protilátek přítomných v patientském vzorku. Pacienti, kteří byli pravidelně ve styku se zvířaty nebo podstoupili imunoterapii nebo diagnostické procedury využívající imunoglobuliny nebo fragmenty imunoglobulinů, mohou produkovat protilátky jako například HAMA (Human Anti-Mouse Antibodies - lidské protilátky proti myším proteinům), které interferují při imunologických stanoveních.

Takové interferující protilátky mohou vést k chybným výsledkům. Výsledky pacientů, u nichž existuje podezření na přítomnost takovýchto protilátek, posuzujte s opatrností.

Hook efekt

Při provedení analýzy ve dvou krocích nebyl žádný hook efekt pozorován.

AFP IRMA KIT

REF IM1441, IM3285

IMUNORÁDIOMETRICKÉ IN VITRO STANOVENIE ALFAFETOPROTEÍNU (AFP)

V ĽUDSKOM SÉRE ALEBO PLODOVEJ VODE Na *in vitro* diagnostické použitie

PRINCÍP

V súprave sú použité myšie monoklonálne protilátky proti dvom rôznym epitopom molekuly AFP. Imunorádiometrické stanovenie AFP prebieha dvoma krokmi. Najprv sa v skúmavkách potiahnutých prvou monoklonálnou protilátkou inkubujú vzorky alebo kalibrátory. Po inkubácii sa obsah skúmaviek odsaje a napipetuje sa do nich druhá protilátka označená ¹²⁵I. Po druhej inkubácii sa odsaje obsah skúmaviek a vymyje sa nenaviazaná označená protilátka. Viazaná aktivita ¹²⁵I sa meria gama-meračom. Koncentrácia alfafetoproteínu v kalibrátoroch a vzorkách je priamo úmerná odmeranej rádioaktívite. Kalibračná krivka sa zostrojí na základe stanovenia sérových kalibrátorov a hodnoty AFP prítomného vo vzorkách sa odčítajú z tejto krivky.

Použitie výsledkov:

- v onkológii,
- výsledky stanovení slúžia spolu s hodnotami hCG a nekonjugovaného estriolu na odhad rizika výskytu Downovho syndrómu (trizómia 21) v prenatálnom screeningu. Postup bol overený na základe multivariačnej Gaussovskej distribučnej analýzy (Wald et al.: Brit Med J 297, 883 – 887; 1988). Doporučuje sa použiť validovaný software (CE) vyvinutý za účelom vyhodnotenia rizika trizómie 21, napríklad software alpha™ (alpha je obchodná značka spoločnosti Logical Medical Systems).

VÝSTRAHA A OPATRENIA

Obecné poznámky:

- Nemiešajte substancie zo súprav rôznych šarží.
- Fľaštičky s kalibrátormi a kontrolnými vzorkami môžu byť otvorené čo najkratšiu dobu, aby nedošlo k nežiaducej odpareniu roztoku.
- Pre každú novú sériu analýz treba urobiť novú kalibráciu.
- Doporučuje sa robiť stanovenia v duplikátoch.
- Skúmavky sú iba na jedno použitie.

Základné pravidlá radiačnej bezpečnosti

Tento rádioaktívny materiál môžu prijímať, skladovať a používať iba pracovníci, ktorí spĺňajú platné zákonné predpisy upravujúce podmienky pre bezpečné nakladanie s otvorenými rádionuklidovými zariadeniami. Pri práci s rádioaktívnymi látkami dodržujte nasledujúce pravidlá:

- Všetky rádioaktívne látky sa musia skladovať v pôvodnom balení a iba na miestach k tomu určených.
- Nesmie sa pipetovať ústami.
- Prijem a spotreba rádioaktívnych látok musia byť evidované.
- Práce s rádioaktívnymi látkami sa musia robiť iba vo vyhradených priestoroch.
- V laboratóriách určených na prácu s rádioaktívnymi látkami je zakázané jesť, piť, fajčiť, líčiť sa a pod.
- Obalový materiál, ktorý nie je kontaminovaný, možno odložiť do bežného odpadu až po odstránení výstražných nápisov a značiek.
- Povrch pracovných stolov, ktorý by mohol byť kontaminovaný, treba pravidelne kontrolovať.
- V prípade kontaminácie alebo úniku rádioaktívneho materiálu postupujte podľa stanovených predpisov.
- Rádioaktívny odpad likvidujte v súlade s platnými zákonmi a predpismi.

Azid sodný


Niektoré substancie sú konzervované azidom sodným. Azid sodný môže reagovať s olovom, meďou alebo mosadzou za vzniku príslušných výbušných azidov. Preto likvidované reagenty splachujte veľkým množstvom vody.

Materiál ľudského pôvodu

Materiál ľudského pôvodu obsiahnutý v reagentoch tejto súpravy mal negatívny test na prítomnosť protilátok proti vírusu HIV 1 a 2, vírusu hepatitídy C a proti povrchovému antigénu hepatitídy B (HBsAg). Žiadna z dostupných metód nedáva stopercentnú istotu neinfekčnosti. Je teda nutné pracovať s týmito reagentami ako s potenciálne infekčnými.

So všetkými krvnými vzorkami sa musí manipulovať ako s potenciálne infekčnými (hepatitís alebo AIDS). Všetok vzniknutý odpad treba likvidovať podľa platných predpisov.

KLASIFIKÁCIA RIZÍK PODĽA GHS

Wash Solution (20X)	NEBEZPEČENSTVO
	
H360	Môže poškodiť plodnosť alebo nenarodené dieťa.
P201	Pred použitím sa oboznámte s osobitnými pokynmi.
P280	Noste ochranné rukavice, ochranný odev a ochranné okuliare/ochranu tváre.
P308+P313	Po expozícii alebo podozrení z nej: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. Kyselina boritá 0,1 - 0,3% Dekahydrát boritanu sodného 0,1 - 0,3%

SDS Bezpečnostný list je k dispozícii na stránkach techdocs.beckmancoulter.com

ZBER A PRÍPRAVA, SKLADOVANIE A RIEDENIE VZORIEK

Odber a spracovanie vzoriek séra

- Odobrajte vzorky krvi do skúmaviek bez aditív.
- Oddel'te frakciu séra.
- Vzorky séra možno uchovávať pri 2-8 °C, ak sa stanovenie urobí do 24 hodín. Pri dlhšom uchovávaní treba vzorky skladovať v alikvótoch pri <-18 °C (maximálne 2 mesiace) alebo pri <-80 °C (maximálne 1 rok). Zabráňte opakovanému zmrazovaniu a rozmrazovaniu. Rozmrazovanie robte pri laboratórnej teplote.
- Vzorky s koncentraciami vyššími než koncentrácia posledného kalibrátora je nutné zriediť fosfátovým tlmivým roztokom.

Vzorky plodovej vody

- Odoberte vzorky plodovej vody do skúmaviek bez aditív.
- Vzorky plodovej vody možno uchovávať pri 2-8 °C, ak bude stanovenie urobené do 24 hodín. Pri dlhšom uchovávaní treba vzorky skladovať v alikvótoch pri <-18 °C (maximálne 2 mesiace) alebo pri <-80 °C, (maximálne 1 rok). Zabráňte opakovanému zmrazovaniu a rozmrazovaniu. Rozmrazovanie robte pri laboratórnej teplote.
- Vzorky plodovej vody zried'te 100x fosfátovým pufrom.

POSKYTOVANÝ MATERIÁL

Všetky reagenty v súprave sú stabilné do dátumu expirácie, uvedeného na štítku krabice, ak sú skladované pri 2-8 °C. Dátumy expirácie uvedené na štítkoch jednotlivých zložiek sa vzťahujú iba na dlhodobé skladovanie u výrobcu pred kompletizáciou súprav. Neberte na ne, prosím, ohľad.

Skladovacie podmienky pre činidlá po rekonštitúcii alebo zriedení sú uvedené v odseku Postup.

Súprava na stanovenie AFP, 100 skúmaviek (kat. č. IM1441)

Skúmavky potiahnuté monoklonálnou protilátkou proti AFP: 2x 50 kusov (prípravené na použitie.)

Monoklonálna protilátka proti AFP, označená ¹²⁵I: 1 fľaštička (22 ml); (prípravená na použitie).

Fľaštička obsahuje ku dňu výroby menej ako 320 kBq označeného imunoglobulínu v pufrí s BSA, azidom sodným (<0,1 %) a farbivom.

Kalibrátory: 6 fľaštičiek (po 0,5 ml); prípravené na použitie.

Fľaštičky obsahujú AFP o koncentráciách od 0 do približne 400 IU/ml v hovädzom sére s azidom sodným (<0,1 %). Presné koncentrácie sú uvedené na štítkoch fľaštičiek. Kalibrátory sú kalibrované na medzinárodný štandard Alphafetoprotein, Human 72/225. 1 IU WHO = 1,21 ng AFP.

Kontrolné vzorky: 2 fľaštičky; lyofilizáty.

Vzorky obsahujú AFP lyofilizované v ľudskom sére. Koncentračné rozmedzia očakávaných hodnôt sú uvedené v dodatku Návodu.

Fosfátový pufor: 1 fľaštička (30 ml); pripravená na použitie.

Fľaštička obsahuje pufor s hovädzím sérovým albumínom.

Premývací roztok (20x): 1 fľaštička (50 ml).

Koncentrovaný roztok sa musí pred použitím zriediť.

Súprava na stanovenie AFP, 400 skúmaviek (kat. č. IM3285)

Skúmavky potiahnuté monoklonálnou protilátkou proti AFP: 400 kusov; pripravené na použitie.

Monoklonálna protilátka proti AFP, označená ¹²⁵I: 4 fľaštičky (po 22 ml); pripravené na použitie.

Kalibrátory: 6 fľaštičiek (po 0,5 ml); pripravené na použitie.

Kontrolné vzorky: 2 fľaštičky; lyofilizáty.

Fosfátový pufor: 4 fľaštičky (po 30 ml); pripravené na použitie.

Premývací roztok (20x): dve 50 ml fľaštičky

POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ SA NEPOSKYTUJE

Okrem obvyklého laboratórneho zariadenia je pre analýzu potrebné nasledujúce vybavenie:

- presná mikropipeta (50 µl)
- poloautomatická pipeta (150 µl, 200 µl a 2 ml)
- vibračné miešadlo
- horizontálna alebo orbitálna trepačka
- výveva
- gama-merač kalibrovaný na 125I

POSTUP

Príprava reagensí

Vytemperujte všetky reagensie na laboratórnu teplotu.

Príprava kontrolných vzoriek

Obsah fľaštičiek sa rozpustí v objeme destilovanej vody, uvedenom na štítku. Po pridaní vody nechajte kontrolné vzorky voľne sa rozpúšťať 10 minút a potom ich ľahko, bez napenenia, premiešajte. Rozpustené kontrolné vzorky možno skladovať pri < -18 °C do dátumu expirácie súpravy.

Príprava premývacieho roztoku

Obsah fľaštičky pridajte k 950 ml destilovanej vody a premiešajte. Zriedený roztok sa môže skladovať pri 2-8 °C do dátumu expirácie súpravy.

Postup stanovení

Vytemperujte všetky reagensie na laboratórnu teplotu.

Krok 1 1. inkubácia	Krok 2 Premytie
Do skúmaviek potiahnutých protilátkou postupne pridajte: 50 µl kalibrátora, kontrolnej alebo neznámej vzorky a 150 µl fosfátového pufru. Premiešajte. Inkubujte 15 minút pri 18-25 °C za stáleho trepania (>280 kmitov/min.).	Obsah skúmaviek odsajte. Do skúmaviek pridajte Pridajte 2 ml premývacieho roztoku a obsah skúmaviek pozorne odsajte.

Krok 3 2. inkubácia	Krok 4 Premytie a meranie
Do skúmaviek pridajte 200 µl rádioindikátora. Premiešajte. Inkubujte 30 min. pri 18-25 °C za stáleho trepania (>280 kmitov/min.).	Pozorne odsajte obsah skúmaviek (s výnimkou 2 skúmaviek na stanovenie celkovej aktivity T). Premyte 2 ml premývacieho roztoku a roztok odsajte. Merajte 1 minútu viazanú aktivitu (B) a celkovú aktivitu (T)

*Napipetujte po 200 µl rádioindikátora do 2 nepotiahnutých skúmaviek na zistenie celkovej aktivity (T).

VÝSLEDKY

Výsledky sa získajú interpoláciou z kalibračnej krivky, ktorá slúži iba pre analýzu tých vzoriek, ktoré boli inkubované spoločne s kalibrátormi.

Kalibračná krivka

Výsledky uvedené v návode boli získané v log-log zobrazení (s použitím funkcie „spline“) vynesением aktivity (cpm_{kal} - cpm_{kal,0}) na os y a koncentrácií AFP v kalibrátoroch na os x (IU/ml). Iné vyhodnocovacie metódy môžu poskytovať odlišné výsledky.

Celková aktivita: 107.924 cpm				
Kalibrátory	IU/ml	cpm (n=3)	B/T (%)	cpm _{kal} - cpm _{kal,0}
0	0	20	0,02	-
1	3	2096	1,83	2076
2	10	6511	5,68	6491
3	40	22 881	20,0	22 861
4	150	61 576	53,7	61 556
5	400	94 180	82,2	94 160

(Príklad typického stanovenia, nepoužívajte pre výpočet.)

Vzorky

Nájdite pre každú kontrolnú alebo neznámu vzorku na osi y hodnotu (cpm_{vz} - cpm_{kal,0}) a odčítajte odpovedajúce koncentrácie AFP na osi x v IU/ml. Nájdene hodnoty riedených vzoriek treba vynásobiť faktorom riedenia.

Pre prepočet IU/ml na ng/ml, vynásobte výsledky číslom 1,21.

OČAKÁVANÉ HODNOTY

Onkológia - normálne sérové hodnoty AFP

Doporučujeme, aby si každé laboratórium stanovilo vlastné normálne hodnoty. Výsledky stanovení by mali byť interpretované v súlade s celkovým klinickým obrazom pacienta vrátane anamnézy, údajov z ďalších testov a iných vhodných informácií.

Nasledujúce hodnoty zistené u zdravých jedincov majú iba orientačný charakter. Koncentrácie AFP v sére uvedenom v tabuľke boli stanovené v sérach 58 zdravých mužov a 36 zdravých žien.

	Počet vzoriek	Rozmedzie konc. (IU/ml)	Medián (IU/ml)
Muž	58	0,46 - 6,41	3,12
Žena	36	0,49 - 9,84	1,94

Screening vrodených vývojových chýb

Výsledky stanovení by mali byť interpretované v súlade s celkovým klinickým obrazom pacienta vrátane anamnézy, údajov z ďalších testov a iných vhodných informácií.

Každé laboratórium by si malo stanoviť vlastné referenčné hodnoty pomocou metódy, vybranej pre stanovenie rizika výskytu Downovho syndrómu. Mimo tohto kontextu nemajú samostatné hodnoty AFP žiadny diagnostický význam.

KONTROLA KVALITY

Správna laboratórna prax predpokladá, že kontrolné vzorky sa používajú v každej kalibrácii, aby sa zaisťovala kontrola kvality získaných výsledkov. Kontrolné vzorky musia byť spracované rovnakým spôsobom ako neznáme vzorky a na vyhodnotenie výsledkov sa majú použiť vhodné štatistické metódy.

V prípade závažného poškodenia obalu, alebo ak získané výsledky nie sú v zhode s analytickými parametrami stanovenia, kontaktujte prosím našich odborných pracovníkov. E-mail: imunochem@beckman.com

VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

(podrobnosti sú uvedené v prílohe "APPENDIX")

Vzorové dáta slúžia iba k informačným účelom. Výsledky získané v jednotlivých laboratóriách sa môžu líšiť.

Citlivosť

Analytická citlivosť: 0,11 IU/ml

Funkčná citlivosť: 0,2 IU/ml

Špecifita

Protilátky používané v súprave nedávajú skřížené reakcie s ľudským sérovým albumínom, transferínom, ľudským IgG, hemoglobínom a bilirubínom.

Presnosť

Intra-assay

Presnosť intra-assay bola stanovená 25-krát opakovanou analýzou. Hodnota variačných koeficientov bola menšia alebo rovná 6,9 % pre sérum a 3,0 % pre plodovú vodu.

Inter-assay

Vzorky boli analyzované v duplikátoch v 10 nezávislých analýzach. Hodnota variačných koeficientov bola menšia alebo rovná 6,3 % pre sérum a 10,9 % pre plodovú vodu.

Správnosť

Test riedenia

Vzorky s vysokou koncentráciou AFP boli riedené a analyzované. Namerané hodnoty „recovery“ sa pohybovali v rozmedzí 86 % až 111 % pre sérum a v rozmedzí 92 % až 112 % pre plodovú vodu.

Test „recovery“

K vzorkám s nízkou hladinou AFP boli pridané séra o známej koncentrácii AFP a vzorky boli analyzované. Namerané hodnoty „recovery“ sa pohybovali v rozmedzí 88 % až 108 % pre sérum a v rozmedzí 100 % až 119 % pre plodovú vodu.

Rozsah merania (od analytickej citlivosti po najvyšší kalibrátor): 0,11 do približne 400 IU/ml.

OBMEDZENIA

Nedodržanie inštrukcií uvedených v tomto návode môže viesť k nesprávnym výsledkom.

Nepoužívajte hemolyzované, ikterické ani lipemické vzorky.

Pri stanoveniach využívajúcich protilátky existuje možnosť interferencie heterofilných protilátok prítomných v patientskej vzorke. Pacienti, ktorí pravidelne prichádzali do kontaktu so zvieratami alebo užívali imunoterapiu, prípadne podstúpili diagnostické procedúry využívajúce imunoglobulíny alebo fragmenty imunoglobulínov, môžu produkovať protilátky, napríklad ľudské protilátky proti myším proteínom (HAMA), ktoré interferujú pri imunologických stanoveniach.

Také interferujúce protilátky môžu mať za následok chybné výsledky. Výsledky pacientov, u ktorých existuje podozrenie na prítomnosť takýchto protilátok, posudzujte s opatrnosťou.

Hook efekt

Pri uvedenej dvojkrokovej analýze nebol pozorovaný žiadny hook efekt.

AFP IRMA KIT

REF IM1441, IM3285

사람 혈청 또는 양수 안의 AFP의

시험관 내 측정을 위한 방사선 면역 측정법 체의 진단용으로 사용합니다

원리

AFP 측정은 분자의 서로 다른 2가지의 항원 결정기에 직접 대항하는 2가지의 단세포군 mouse 항체를 사용하는 2 step "sandwich" 형 측정법이다. 미지 검체나 calibrator는 제1항체로 피복한 시험관 내에서 incubation된다. 그런 후 시험관의 내용물은 흡입되어지고 ¹²⁵I 표지 제2항체를 사용한 incubation에 의해 검체 내의 AFP의 존재가 드러난다. 시험관의 내용물이 흡입되고 결합형 방사능량은 Gamma counter에서 측정된다. 검체의 AFP 농도값은 표준 곡선의 내삽에 의해 결정된다. 검체의 AFP 농도는 방사능량에 정비례한다.

자료는 다음과 같이 사용된다:

- 중앙
- hCG와 unconjugated estriol농도와 함께 다운증후군 측정에 관계가 있다. 이것은 다변수 가우수의 분포도 분석을 기초로 입증된 것이다. (Wald et al.: Brit Med J 297, 883 - 887; 1988). Trisomy 21의 위험을 측정하기 위해서는 특별히 제작된 소프트웨어(CE marked)의 사용을 추천한다. 예, 소프트웨어 alpha™ (alpha는 Logical Medical systems의 고유 마크이다.)

경고 및 주의 사항

일반적인 주의

- 상이한 lot의 kit들을 서로 섞지 않는다.
- 표준액과 정도관리용액은 증발을 막기 위해 가능한 짧게 개봉해야 한다.
- 각 측정마다 새로운 표준 곡선이 필요하다.
- 2번의 반복 측정이 권장된다.
- 각 튜브는 반드시 한번씩만 사용해야 한다.

방사선 안전에 대한 기본 규칙

방사성 물질의 구입, 소유와 양도는 사용되는 국가의 규제에 따른다. 기본 규칙에 대한 엄수는 충분한 보호를 제공한다. 방사성 물질이 있는 장소에서는 취식, 음주, 흡연과 화장을 하지 않도록 한다.

- 방사성 물질이 있는 장소에서는 취식, 음주, 흡연과 화장을 하지 않도록 한다.
- 방사성 용액을 입으로 pipetting 하지 않도록 한다.
- 장갑과 실험복을 착용하여 방사성 물질에 대한 모든 접촉을 피하여라.
- 방사성 물질의 모든 조작은 복도와 다른 바쁜 장소에서 적절한 장소, 거리에서 수행되어야 한다.
- 방사성 물질은 지정된 장소 내에서 제공되는 용기에 보관되어야 한다.
- 모든 방사성 제품의 수령과 저장에 대한 기록은 최신정보로 갱신하여야 한다.
- 오염이 되기 쉬운 실험실 장비와 유리제품은 다른 종류의 방사성 동위원소와의 교차오염의 예방을 위해 분리 보관되어야 한다.
- 모든 종류의 방사성 오염이나 방사성 물질의 분실은 규정된 절차에 의해 해결되어야만 한다
- 방사성 폐기물은 사용되는 국가에서 규정한 규제에 따라 처리되어야만 한다.

아지드화 나트륨

어떤 시약은 방부제로서 아지드화 나트륨을 포함하고 있다. 아지드화 나트륨은 납, 구리, 황동과 폭발성 오오드화 금속의 형태를 띠는 반응을 일으킬 수 있다. 시약은 많은 양의 물로 씻어내어 배관계통을 통해 처분하라.

사람 기원 물질

본 kit 의 어떤 시약들은 사람으로부터 기인한 것이고 HIV 1, HIV 2와 B형, C형 간염에 대해 음성으로 나타났다. 하지만 전염성을 가진 것처럼 취급하여라. 어떠한 시험방법도 전염성 물질이 없다고 완전히 확신시킬 수는 없다. 이러한 시약들은 잠재적으로 감염성을 가진 것처럼 취급하라.

모든 혈액 검체는 질병을 전염시키는 것으로(예를 들면 간염이나 AIDS) 취급하라.

GHS 유해물질 등급

Wash Solution (20X) 위험



H360

생식능력이나 태아에 손상을 일으킬 수 있음.

P201

사용 전 취급 설명서를 확보하십시오.

P280

보호용 장갑, 보호용 의류 및 눈/안면 보호장구를 착용하십시오.

P308+P313

노출되었거나 노출이 우려되는 경우: 의학적인 조언/주의를 받으십시오.

농산 0.1 - 0.3%

농산 나트륨 10수화물 0.1 - 0.3%

SDS

안전보건자료는 techdocs.beckmancoulter.com에서 확인할 수 있습니다

표본 채집, 처리, 보관 및 회석

혈청 검체

- 아무런 첨가물이 없는 건조한 시험관에 혈액을 수집한다.
- 가능한 한 빨리 원심분리하여 혈청을 분리한다.
- 혈청 검체는 측정이 24시간 이내에 이루어진다면 2-8°C에서 보관할 수 있다. 더 오랜 기간의 보관을 위해서는 정제 후 -18°C(최대 2개월) 이하 또는 -80°C(최대 1년) 보관하여 반복적인 냉동과 해동을 피한다. 검체는 실온에서 해동시킨다.
- 만약 검체의 농도가 최고 교정물질의 농도보다 높으면 인삼염 완충액으로 회석해야 한다.

양수 검체 - 아무런 첨가물 없는 건조한 시험관에 양수를 수집한다.

- 아무런 첨가물 없는 건조한 시험관에 양수를 수집한다.
- 양수 검체는 측정이 24시간 이내에 이루어진다면 2-8°C에서 보관할 수 있다. 더 오랜 기간의 보관을 위해서는 -18°C 이하(최대 2개월) 또는 -80°C 이하(최대 1년)에서 분리 보관하여 반복적인 냉동과 해동을 피한다. 검체는 실온에서 해동시킨다.
- 양수 검체는 실험 전에 인삼염 완충액으로 100배 회석시켜야 한다.

제공되는 품목

Kit내의 모든 시약은 2~8°C에 저장하면 Kit label에 표기된 유효기간까지 안정하다. 구성 바이알에 표기된 온도와 유효기간은 제조사를 위한 표기이니, 참고하지 마십시오.

복원 또는 회석 후 시약에 대한 보관 조건은 절차 단락에 명시되어 있습니다.

AFP 측정을 위한 KIT, 100 tests Cat.# IM1441

항-AFP 단세포군 항체로 피복된 시험관: 2 × 50 tubes (즉시사용가능)

단세포군 ¹²⁵I-표지 항-AFP tracer 항체: 22Mℓ vial 1개 (즉시사용가능)

Vial은 소혈청 알부민, 아지드화 나트륨(<0.1%) 과 염색제를 포함한 완충액 내에 ¹²⁵I-면역글로불린 320 kBq 이하(생산일에)를 담고 있다.

AFP 표준액: 0.5Mℓ vials 6개 (즉시 사용가능)

표준용액은 소혈청 알부민과 아지드화 나트륨(<0.1%)과 함께 0에서 400IU/mL의 AFP를 포함하고 있다. 정확한 농도는 각각의 vial에 표기되어 있다. 표준액은 Alpha-fetoprotein 국제기준을 따라 표준화되었다. Human 72/225 (1 IU WHO = 1.21 ng AFP)

정도관리용액: 2 vials (동결건조 상태)

바이알에는 동결 건조된 인간 혈청 AFP가 포함되어 있습니다. 예상 값이 부족에 표기된 농도 범위에 해당합니다.

인삼염 완충액: 30Mℓ vial 1개 (즉시 사용가능)

Vial은 소혈청 알부민 완충액을 포함하고 있다.

세척 용액(20x): 50Mℓ vial 1개

농축되어 있는 용액은 사용하기 전에 회석해야 한다.

AFP 측정을 위한 KIT, 400 tests Cat.# IM3285

항-AFP 단세포군 항체로 피복된 시험관: 8 × 50 tubes (즉시사용가능)

단세포군 ¹²⁵I-표지 항-AFP tracer 항체: 22M₂ vial 4개 (즉시사용가능)

AFP 표준액: 0.5M₂ vials 6개 (즉시 사용가능)

정도관리용액: 2 vials (동결건조 상태)

인산염 완충액: 30M₂ vial 4개 (즉시 사용가능)

세척액(20x): 50 M₂ 바이알 2개

필요하지만 제공되지 않는 품목

표준적인 실험실 기기에 부가하여 아래의 항목들이 요구된다.

- 정밀 micropipet (50 μl)
- 반 자동 pipet (150 μl, 200 μl, 2 M₂)
- Vortex형 믹서
- 수평 케도형 shaker
- 흡입용 system
- 125I를 위한 gamma counter

절차

시약의 준비

모든 시약들이 실온에 이르게 한다.

정도관리용액의 재구성

vial의 내용물은 vial label에 표기된 증류수로 재구성 한다. 분배하기 전, 거품생성 방지를 위해 10분간 방치 후 조심스럽게 섞어준다. 재구성한 용액은 -18°C이하에서 유효기간까지 냉동상태로 저장한다.

세척액 준비

vial을 950M₂의 증류수와 혼합하고 균질화 한다. 이 용액은 유효기간까지 2-8°C에 저장한다.

측정단계

모든 시약들이 실온에 이르게 한다.

1단계 첫번째 배양	2단계 세척
항체-피복 시험관에 차레대로 첨가한다: 표준나 검체 50μl 와 인산염 완충액 150μl. 혼합한다. 280rpm으로 shaking하며 18-25°C에서 15분간 배양한다.	각 시험관의 내용물을 조심스럽게 흡입한다. 세척액 2M ₂ 를 첨가하고 조심스럽게 흡입한다.

3단계 두번째 배양	4단계 세척과 계수
모든 시험관에 tracer 200μl를 첨가한다. 혼합한다. 280rpm으로 shaking하며 18-25°C에서 30분간 incubation한다.	각 시험관(총방사능 T를 위한 2개의 시험관은 제외)의 내용물을 조심스럽게 흡입한다. 증류수 2M ₂ 로 시험관을 세척하고 흡입한다. 결합 CPM(B)와 총 CPM(T)를 1분간 계수한다.

*총 cpm을 얻기 위한 2개의 시험관에 tracer 200μl를 첨가한다.

결과

결과값은 검체와 함께 측정하여 작성된 표준곡선으로부터의 내삽으로 얻어진다. 곡선은 표준용액과 동시에 측정된 검체 내 AFP 농도를 결정짓는다.

표준곡선

결과값은 수직축 상에 cpm_{cal} - cpm_{cal0}값이고, 수평축상에 검체의 AFP 농도인 spline 곡선에 의해 계산되어진 값이다. 다른 데이터의 공제 방법은 다른 결과값을 보여줄 수 있다.

Total activity: 107,924 cpm				
표준용액	IU/mL	cpm (n=3)	B/T (%)	cpm _{cal} - cpm _{cal0}
0	0	20	0.02	-
1	3	2,096	1.83	2,076
2	10	6,511	5.68	6,491
3	40	22,881	20.0	22,861
4	150	61,576	53.7	61,556
5	400	94,180	82.2	94,160

(표준곡선의 예, 결과값에는 적용하지 마십시오.)

검체

표준곡선의 수직축 상에 각 혈장과 양수 검체의 cpm_{sample} - cpm_{cal0} 값을 위치시키고 수평축 상에서 대응하는 검체의 AFP 농도를 읽어들인다. 농도는 IU/M₂로 나타내었고, 필요시 희석 인자로 교정하여야 한다.

IU/M₂을 ng/M₂로 전환하기 위해서는 결과에 1.21을 곱한다.

기대값

종양 - 정상 AFP 혈청 농도

각 검사실마다 각자의 참고값을 설정하기를 권장한다. 결과는 환자의 임상학적 가족력과 추가되는 실험이나 적절한 정보 등 모든 임상학적 자료를 통해 해석해야 한다.

아래 결과는 건강한 검체에서 얻은 값들을 나타낸 것이다. 표에 나온 AFP 농도는 58명의 남성과 36명의 여성에게서 얻은 값이다.

	샘플 수	농도 범위 (IU/mL)	중간값 (IU/mL)
남성	58	0.46 - 6.41	3.12
여성	36	0.49 - 9.84	1.94

선천적 기형아 검사

결과는 환자의 임상학적 가족력과 추가되는 실험이나 적절한 정보 등 모든 임상학적 자료를 통해 해석해야 한다.

검사실은 각 검사실마다 선택한 다른 중후군 검사방법에 따라 각자의 참고값을 설정하기를 권장한다. 이 자료없이 AFP 농도값 만을 가지고는 진단을 내릴 수 없다.

정도관리

좋은 실험 실습은 control 검체가 결과값의 질을 향상시켜주는데 이용되는 것을 내포한다. 검체들은 측정 검체와 같은 방법으로 처리되어야 하며 적절한 통계방법에 의해서 분석되어진 결과값이 권장된다.

만약 포장에 이상이 있거나 결과값에 문제가 있으면, 공급업체나 다음의 메일로 연락주시기 바랍니다. imunochem@beckman.com

성능 특성

(더 자세한 사항은 "APPENDIX"를 참고하세요.)

제시된 자료는 예시 참고용입니다. 각 실험실의 결과들은 다를 수 있습니다.

민감도

분석적 민감도: 0.11 IU/mL

기능적 민감도: 0.2 IU/mL

특이도

본 kit에 사용된 항체는 사람의 혈청 albumin, transferrin, human IgG, hemoglobin 또는 bilirubin과는 교차반응을 보이지 않는다.

정밀성

측정내

검체들은 같은 종류로 25번 측정되었다. 변이계수는 6.9% 이하였다, 3.0% 양수.

측정간

검체들은 다른 종류로 10번 반복 측정되었다. 변이계수는 6.3% 이하였다, 10.9% 양수.

정확성

희석 검사

고농도의 검체들은 연속적으로 희석되었다. 회수율 비율은 86~111%였다, 92%~112% 양수.

회수율 검사

저농도의 검체들은 정량의 AFP가 첨가되었다. 회수율 비율은 88~108%였다, 100%~119% 양수.

측정범위 (분석적 민감도부터 최고 표준농도까지) 0.11에서 대략 400 IU/mL.

한계

이 사용설명서를 준수하지 아니하면 결과에 크게 영향을 미칠 것이다.

용혈된 검체나 고지혈증, 황달이 있는 검체의 사용은 피한다.

본 검사에 사용되는 항체는 환자 검체의 헤테로필릭 항체의 간섭을 받을 수 있다. 정기적으로 동물에 노출되거나 면역치료 또는 항체를 생산할 수 있는 면역글로블린 (예: HAMMA)을 이용하는 진단 검사를 받은 환자는 면역검사에 간섭을 받을 수 있다.

이와 같이 간섭을 일으키는 항체는 잘못된 결과를 가져올 수 있습니다. 이러한 항체를 보유한 것으로 의심되는 환자의 결과를 주의해서 평가하십시오.

AFP IRMA KIT

REF IM1441, IM3285

İNSAN SERUM VEYA AMNION SIVISINDA AFP'NİN TESPİTİ İÇİN

IN VITRO IMMUNORADIOMETRİK TESTTİR *In vitro* diagnostik kullanım içindir

PRENSİP

AFP deneyi, molekülün iki farklı epitoplara yönelmiş fare antikorlarının kullanıldığı iki aşamalı sandwich tipi bir testtir. Numune ve kalibratörler, ilk monoklonal antikor ile kaplanmış tüplerde, iyot 125 ile işaretlenmiş ikinci monoklonal antikor varlığında inkübe edilirler. İnkübasyon sonrasında, tüp sıvı içeriği yıkanır. Bağlanmış radyoaktivite bir gamma sayacında ölçülür. Numunelerdeki AFP konsantrasyonu bir standart eğrisinden interpolasyon yoluyla alınır. Numunedeki AFP konsantrasyonu, radyoaktivite ile doğru orantılıdır.

Verilerin kullanılabilceği yerler:

- Onkolojide,
- Down's sendromu (Trisomy 21) risk değerlendirmesinde, hCG ve unconjugated estriol konsantrasyonları ile birlikte. Böyle bir yaklaşım, multivariate Gaussian dağılım analizinde doğrulanmıştır. (Wald et al.: Brit Med J 297, 883 – 887; 1988) Trisomy 21 risk değerlendirmesinde, özellikle bu amaçla geliştirilmiş, geçerli (CE işaretli) yazılım ör. alpha™ programı kullanılması kuvvetle önerilir (alpha, Logical Medical Systems'in lisanslı bir ürünüdür).

UYARILAR VE ÖNLEMLER

Genel yorumlar:

- Farklı lotlardan kit reaktiflerini karıştırmayınız.
- Kalibratör ve kontrol şişeleri, buharlaşmayı önlemek amacıyla mümkün olduğunca kısa süreli açık kalmalıdır.
- Her deney için bir standard eğrisi dahil edilmelidir.
- Testi duplike olarak çalışmak önerilmektedir.
- Her tüp sadece bir kez kullanılmalıdır.

Radyasyon güvenliği için temel kurallar

Radyasyon güvenliği için temel kurallar Satınalma, sahip olma, kullanma ve radyoaktif materyalin taşınması, kullanılan ülkenin yönetmeliğine tabidir. Radyasyon güvenliğinin temel kurallarına bağlı kalınması, yeterli korumayı sağlayacaktır.

- Radyoaktif materyallerin bulunduğu ortamda yeme, içme, sigara içme, kozmetik uygulaması gibi faaliyetler gerçekleştirilmemelidir.
- Radyoaktif materyallerin pipetlemesi ağızla yapılmamalıdır.
- Eldiven ve laboratuvar kıyafetleri giyerek, radyoaktif materyallerle teması önlenir.
- Radyoaktif malzemelerle ilgili bütün işlemler, kalabalık ortamlar ve koridorlardan uzakta uygun bir ortamda gerçekleştirilmelidir.
- Radyoaktif materyaller, bu malzemeler için ayrılmış bir bölümde ve kapalı bir dolapta saklanmalıdır.
- Radyoaktif ürünlerin girişi ve saklanması ile ilgili bir kayıt güncel olarak tutulmalıdır.
- Kontaminasyona uğramış laboratuvar ekipmanları ve tüpler, farklı radyoizotopların çapraz kontaminasyonunu önlemek için ayrı tutulmalıdır.
- Her bir radyoaktif kontaminasyon veya radyoaktif malzeme kayıp vakası, belirlenen prosedürler izlenerek çözülmelidir.
- Radyoaktif atıklar, ülkenin kurallarına uyularak ele alınmalı ve yok edilmelidir.

Sodyum asit

Bazı reaktifler koruyucu olarak sodyum asit içermektedir. Sodyum asit, kurşun, bakır veya pirinç ile reaksiyona girebilir ve patlayıcı metal asitler oluşturabilir. Reaktiflerin, lavabo ve boru sisteminden bol su akıtılarak giderilmesi gerekmektedir.

İnsan kaynaklı materyal

Bu kit içindeki insan kaynaklı materyaller, HIV 1 ve HIV 2 antikorları, HCV antikorları ve Hepatit B yüzey antijenleri (HbsAg) yönünden

negatif bulunmuştur. Ancak, hastalık geçirebilecek materyal gibi işlem uygulanmalıdır. Virüs yokluğunu garanti edecek bir metod bulunmamaktadır. Bu kiti, bütün gerekli önlemleri alarak kullanınız.

Bütün serum, hepatitler ve AIDS'i geçirebilecek gibi işlem yapılmalıdır. Atıklar, ülkenin kurallarına göre yok edilmelidir.

GHS TEHLİKE SINIFLANDIRMASI

Wash Solution (20X) TEHLİKE



H360

Doğmamış çocukta hasara yol açabilir veya üremeye zarar verebilir.

P201

Kullanmadan önce özel talimatları okuyun.

P280

Koruyucu eldiven, koruyucu kıyafet ve göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.

P308+P313

Maruz kalma veya bu durumdan endişe edilmesi HALİNDE: Tıbbi yardım/bakım alın. Borik Asit 0,1 - 0,3% Sodyum Borat Dekahidrat 0,1 - 0,3%

SDS

Güvenlik Bilgi Formuna techdocs.beckmancoulter.com adresinden ulaşılabilir

NUMUNE TOPLANMASI, SAKLANMASI VE DİLÜSYONU

Serum numuneleri

- Kanı, başka bir madde içermeyen kuru tüplere alınır.
- Serum hücrelerden santrifüjle ayırınız.
- Eğer test 24 saat içinde gerçekleştirilecekse, serum numuneleri 2-8°C'de saklanabilir. Daha uzun süre saklanacaksa, tekrar çözüp dondurma işlemini önlemek için bölünüz ve dondurarak <-18°C'de (maksimum 2 ay) veya <-80°C (maksimum 1 yıl) saklayınız. Numunelerin buzu oda ısısında çözündürülmelidir.
- Numuneler en yüksek kalibratörden daha yüksek değere sahipse, fosfat tamponu ile dilüe edilmelidir.

Amniotik sıvı numuneleri

- Amniotik sıvıyı, hiçbir madde içermeyen kuru tüplere alınır.
- Eğer test 24 saat içinde gerçekleştirilecekse, amniotik sıvı numuneleri 2-8°C'de saklanabilir. Daha uzun süre saklanacaksa, tekrar çözüp dondurma işlemini önlemek için bölünüz ve dondurarak <-18°C'de (maksimum 2 ay) veya <-80°C (maksimum 1 yıl) saklayınız. Numunelerin buzu oda ısısında çözündürülmelidir.
- Amniotik sıvı numuneleri, testten önce fosfat tamponu ile dilüe edilmelidir 1:100.

SAĞLANAN MALZEMELER

2-8°C'de saklandığında bütün reaktifler, kit etiketindeki son kullanma tarihine kadar stabildir. Şişe üzerindeki son kullanma tarihleri sadece üretici tarafından içeriklerin uzun süreli saklanmaları durumunda geçerlidir.

Sulandırma veya seyreltme sonrasında reaktif saklama koşulları Prosedür paragrafında belirtilmiştir.

AFP tespiti için kit, 100 tüp (Kat. # IM1441)

Anti-AFP monoklonal antikor-kaplanmış tüpler: 2x 50 tüp (kullanıma hazır)

Monoklonal ¹²⁵I-ışaretlenmiş anti-AFP tracer antikor: 22 mL 1 şişe (kullanıma hazır).

Şişe, üretim tarihinde, bovin serum albumin, sodyum asit (<%0,1) ve boya içeren bir tampon içindeki ¹²⁵I-ışaretlenmiş immunoglobulinlerden, 320 kBq içerir.

AFP kalibratörler: 0,5 mL altı şişe (kullanıma hazır).

Kalibratör şişeleri, bovin serumu ve sodyum asit (<% 0.1) içinde 0 ile yaklaşık 400 IU/mL AFP içerir. Tam konsantrasyon, şişe üzerindeki etikette belirtilmiştir. Kalibratörler, Human 72/225 Alfafetoprotein Uluslararası Standardına göre kalibre edilmiştir. (1 IU WHO = 1.21 ng AFP)

Kontrol serumu: iki şişe (liyofilize)

Şişe, insan serumunda liyofilize AFP içermektedir. Beklenen değerler, ekteki konsantrasyon aralıklarında belirtilmiştir.

Fosfat tamponu: 30 mL bir şişe; kullanıma hazır.

Şişe, bovin serum albuminli tampon içerir.

Yıkama solüsyonu (20x): 50 mL bir şişe

Konsantrasyon kullanmadan önce dilüe edilmelidir.

AFP tespiti için kit, 400 tüp (Kat. # IM3285)

Anti-AFP monoclonal antikor-kaplanmış tüpler: 8 x 50 tüp (kullanıma hazır).

Monoclonal ¹²⁵I-işaretlenmiş anti-AFP tracer antikor: 22 mL dört şişe. (kullanıma hazır).

AFP Kalibratörler: 0,5 mL altı şişe, (kullanıma hazır).

Kontrol serumu: iki şişe (liyofilize)

Fosfat tampon: 30 mL dört şişe; kullanıma hazır

Yıkama çözeltisi (20x): iki 50 mL flakon

GEREKLİ OLAN ANCAK SAĞLANMAYAN MALZEMELER

Standard laboratuvar ekipmanlarına ek olarak aşağıdaki malzemeler gerekmektedir:

- Hassas mikropipet (50 µL).
- Yarı-otomatik pipet (150 µL, 200 µL, 2 mL).
- Vorteks tipi mikser
- Horizontal veya orbital shaker.
- Aspirasyon sistemi
- 125 iyot için gamma counter seti

PROSEDÜR

Reaktiflerin hazırlanması

Reaktifleri oda ısısına getiriniz.

Kontrol serumlarının hazırlanması

Şişelerin içeriği etikette belirtilen miktarda distile su ile sulandırılmalıdır. Sulandırdıktan sonra 10 dakika bekleyiniz ve köpüklenmeden yavaşça karıştırınız. Sulandırılmış solüsyonları bölerek < -18°C'de kitin son kullanma tarihine kadar saklayabilirsiniz.

Yıkama solüsyonunun hazırlanması

Şişe içeriğini 950 mL distile su içine boşaltınız ve homojenize ediniz. Dilüe edilmiş solüsyon, 2-8°C'de etiket üzerindeki son kullanma tarihine kadar stabildir.

Test prosedürünün özeti

Reaktifleri oda ısısına getiriniz.

Aşama 1 1nci inkübasyon	Aşama 2 Yıkama
Kaplanmış tüplere doğru bir şekilde ekleyiniz: 50 µL kalibratör veya numune ve 150 µL fosfat tamponu. Karıştırınız. 15 dak. 18-25°C'de shakerda >280 rpm inkübe ediniz.	Tüplerin içeriğini dikkatlice aspire ediniz. 2 mL yıkama solüsyonu ekleyiniz ve dikkatlice aspire ediniz.

Aşama 3 Zinci inkübasyon	Aşama 4 Yıkama ve sayım
Bütün tüplere 200 µL tracer* Karıştırınız. Karıştırınız. 30 dak. 18-25°C'de shakerda >280 rpm inkübe ediniz.	Tüplerin içeriğini dikkatlice aspire ediniz (2 total aktivite T tüpü hariç). Tüpleri 2 mL yıkama solüsyonu ile yıkayınız ve aspire ediniz. Bağlı sayım/dak (B) ve total sayım/dak (T)'yi 1 dakika sayınız.

*Total sayım/dak'yi elde etmek için 2 ek tüpe 200 µL tracer ekleyiniz.

SONUÇLAR

Sonuçlar, standard eğrisinden interpolasyon yoluyla alınır. Eğri, kalibratörlerle aynı anda ölçülen numunedeki AFP konsantrasyonunu belirlemede hizmet eder.

Standard eğrisi

Paket içindeki kullanma kılavuzundaki sonuçlar, dikey ekseninde belirlenen radyoaktivite (sayım/dak_{Kal}-sayım/dak_{Kal0}) ve yatay ekseninde kalibratörlerin AFP konsantrasyonları (IU/mL) yer alacak şekilde bir log-log eğri çizgisi ("spline mode") kullanılarak hesaplanmıştır. Diğer veri indirgeme metodları biraz farklı sonuçlar verebilir.

Total aktivite: 107.924 sayım/dak				
Kalibratörler	IU/mL	sayım/dak (n=3)	B/T (%)	sayım/ dak _{Kal} - sayım/ dak _{Kal0}
0	0	20	0,02	-
1	3	2.096	1,83	2.076
2	10	6.511	5,68	6.491
3	40	22.881	20,0	22.861
4	150	61.576	53,7	61.556
5	400	94.180	82,2	94.160

(Standard eğrisi örneği, hesaplamada kullanmayınız)

Numuneler

Her bir numune veya kontrol için, dikey ekseninde (sayım/dak_{Numune}-sayım/dak_{Kal0}) yerini belirleyiniz ve yatay ekseninde ona karşılık gelen AFP konsantrasyonunu okuyunuz. Dilüe edilmiş numunelerin konsantrasyonları dilüsyon faktörü ile düzeltilmelidir.

IU/mL'yi ng/mL'ye dönüştürmek için, sonuçları 1.21 ile çarpınız.

BEKLENEN DEĞERLER

Onkoloji - normal AFP serum konsantrasyonları

Her laboratuvarın kendi referans değerlerini oluşturmasını öneririz. Aşağıda verilen AFP değerleri sağlıklı kişilerden elde edilmiştir ve sadece belirleyicidir. Sonuçlar, klinik hikaye, ek testlerden alınan veriler ve diğer bilgilerin de yer aldığı hastanın toplam klinik durumu ışığı altında değerlendirilmelidir.

Sağlıklı kişilerden alınan aşağıdaki değerler sadece belirleyicidir. Tabloda verilen serum AFP konsantrasyonları 58 sağlıklı erkek ve 36 sağlıklı kadın donörden elde edilmiştir.

	Numune sayısı	Kons. sınırı (IU/mL)	Median (IU/mL)
Erkek	58	0,46 - 6,41	3,12
Kadın	36	0,49 - 9,84	1,94

Konjenital malformasyonların tanınması

Sonuçlar, klinik hikaye, ek testlerden alınan veriler ve diğer bilgilerin de yer aldığı hastanın toplam klinik durumu ışığı altında değerlendirilmelidir.

Laboratuvarlar, kullandıkları Down's sendromu risk değerlendirme metoduna göre kendi referans değerlerini oluşturmalıdırlar. Bu kapsam dışında, tek başına AFP değeri bir anlam ifade etmez.

KALİTE KONTROL

İyi laboratuvar uygulamaları, alınan sonuçların kalitesini garanti altına almak için kontrol numunelerinin düzenli olarak kullanılmasını gerektirir. Bu numuneler, aynen test numuneleri gibi kullanılmalıdır ve sonuçlarının uygun istatistiksel metodlarla analiz edilmesi önerilmektedir.

Paketteki bozulma veya alınan verilerde değişiklik olduğu durumlarda lütfen yerel distribütörünüzü arayınız veya aşağıdaki e-mail adresini kullanınız. imunochem@beckman.com

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

(daha fazla bilgi için ekteki "APPENDIX-EK" veri formuna bakınız)

Temsili veriler yalnızca örnek olarak verilmiştir. Her bir laboratuvarında elde edilen performans farklılık gösterebilir.

Hassasiyet

Analitik duyarlılık: 0,11 IU/mL

Fonksiyonel duyarlılık: 0,2 IU/mL

Özgüllük

Bu kitte kullanılan antikorlar, insan serum albumini, transferrin, immunoglobulinler, hemoglobin veya bilirubinle çapraz reaksiyon göstermemiştir.

Kesinlik**Deney-içi**

Numuneler, aynı seride 25 kez tekrarlandı. Değişim katsayısı % 6.9'a serum için ve % 3.0'ya eşit veya altında bulundu amniyon sıvısı için.

Testler arası

Numuneler 10 farklı seride duplike olarak test edildi. Değişim katsayısı % 6.3'e serum için ve % 10.9'ya eşit veya altında bulundu amniyon sıvısı için.

Doğruluk**Dilüsyon testi**

Yüksek konsantrasyonlu numuneler fosfat tamponu içinde seri olarak dilüe edildi. Alınan düzeltme oranı % 86 ve % 111 arasında idi serum için ve % 92 ve % 112 amniyon sıvısı için.

Düzeltilme testi

Düşük konsantrasyonlu numuneler, bilinen miktarda AFP ile karıştırıldı. Alınan düzeltme oranı % 88 ve % 108 arasında idi serum için ve % 100 ve % 119 amniyon sıvısı için.

Ölçüm aralığı (analitik duyarlılıktan en yüksek kalibratöre kadar): 0.11 ile yaklaşık 400 IU/mL.

SINIRLAMALAR

Bu kullanım kılavuzuna uyulmaması, sonuçları belirgin olarak etkileyebilir.

Çok hemolizli, sararmış ve lipemik numuneleri kullanmayınız.

Antikor içeren testlerde, hasta serumu içindeki heterofil antikorlar tarafından interferans olasılığı bulunmaktadır. Hayvanlarla sürekli etkileşimde bulunan hastalar veya immunoterapi gören veya ör. HAMA gibi immunoassay ile etkileşim gösteren immunoglobulinler veya immunoglobulin fragmanlarının kullanıldığı tedavi gören hastalarda antikor oluşturabilir.

Etkileşime giren bu tür antikorlar hatalı sonuçlar üretebilir. Bu antikorlara sahip olduğundan şüphe duyulan hastaların sonuçlarını dikkatle değerlendirin.

Hook etkisi

İki aşamalı prosedür kullanıldığında hook etkisi bulunmamaktadır.

AFF IRMA KIT

REF IM1441, IM3285

НАБОР ДЛЯ ИММУНОРАДИОМЕТРИЧЕСКОГО IN VITRO ОПРЕДЕЛЕНИЯ АФП

В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И АМНИОТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ ЧЕЛОВЕКА

Для диагностики *in vitro*

ПРИНЦИП

Иммунорадиометрическое определение АФП относится к двухстадийным анализам типа "сэндвич", в котором используется два вида мышиных моноклональных антител к различным эпитопам его молекулы. Исследуемые образцы, контрольные и калибровочные пробы инкубируют в пробирках, покрытых одним видом моноклональных антител. Затем удаляют содержимое пробирок и проводят вторую инкубацию с другим видом моноклональных антител, меченных ¹²⁵I. После окончания инкубации содержимое пробирок удаляют, отмывают несвязанные антитела и измеряют связанную активность ¹²⁵I. Концентрацию АФП, прямо пропорциональную связанной активности, определяют методом интерполяции по калибровочной кривой.

Результаты данного вида анализа используются:

- в онкологии,
- в комбинации с результатами определений ХГЧ и неконъюгированного эстриола для оценки риска возникновения синдрома Дауна (трисомия 21). Методика проверена на основании использования метода распределения Гаусса (Wald et al.: Brit Med J 297, 883 – 887, 1988). Настоятельно рекомендуем использовать сертифицированные (CE), предназначенные специально для оценки риска синдрома Дауна, компьютерные программы, n-p: программа alphaTM(alpha является продукцией компании Logical Medical Systems).

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Общие замечания:

- Не смешивать реагенты из наборов разных серий.
- Флаконы с калибраторами и контролями следует открывать непосредственно перед использованием, во избежание чрезмерного испарения.
- Анализ калибровочных проб должен проводиться одновременно с исследуемыми образцами.
- Анализ рекомендуется проводить в дубликатах.
- Пробирки предназначены для однократного использования.

Основные правила радиационной безопасности

Получение, использование и транспортировка радиоактивных материалов должны происходить в соответствии с принятыми в данной стране нормами радиационной безопасности и санитарными правилами работы с радиоактивными веществами.

- В лабораториях запрещается принимать пищу, курить, пользоваться косметикой.
- Не пипетировать растворы радиоактивных веществ ртом.
- Для ограничения контакта с радиоактивными материалами рекомендуется использовать разовые перчатки и лабораторную спецодежду.
- Все манипуляции с радиоактивными веществами следует проводить в специально оборудованных для этого помещениях, удаленных от мест постоянного пребывания людей.
- Радиоактивные вещества следует хранить с использованием контейнеров в специально отведенных для этого местах.
- Необходимо регистрировать поступление и расход радиоактивных материалов.
- Лабораторное оборудование и посуду следует хранить отдельно, чтобы предотвратить их загрязнение радиоактивными изотопами.
- Любой случай радиоактивного загрязнения или исчезновения радиоактивного материала должен рассматриваться в соответствии с законодательством.

- Утилизация радиоактивных отходов должна осуществляться в соответствии с законодательством.

Азид натрия

Некоторые компоненты набора содержат азид натрия в качестве консерванта. Вступая в реакцию со свинцом, медью и латунью, азид натрия образует взрывоопасные азиды металлов. Отработанные реагенты следует разбавлять большим количеством водопроводной воды, после чего их можно сливать в канализацию.

Материал человеческого происхождения

Материал человеческого происхождения, входящий в состав компонентов набора, не содержит антител к HIV 1, HIV 2, HCV и к поверхностному антигену вируса гепатита В (HBsAg). Тем не менее, ни один из существующих методов анализа не может гарантировать полного отсутствия инфекционных агентов в исследуемом материале. Поэтому при работе с компонентами набора следует соблюдать необходимые меры предосторожности.

С исследуемыми образцами сыворотки крови следует обращаться как с потенциально инфекционным материалом, могущим содержать вирусы СПИД и гепатита. Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с законодательством.

КЛАССИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТЕЙ ПО СИСТЕМЕ СГС

Wash Solution (20X) ОПАСНО!



H360

Может привести к нарушению репродуктивной функции или нанести вред ребенку в утробе матери.

P201

Перед использованием получить специальные инструкции.

P280

Надевать защитные перчатки, защитную одежду, средства защиты органов зрения / лица.

P308+P313

ПРИ воздействии или подозрении на воздействие: обратиться за медицинской помощью. Борная кислота 0,1 - 0,3% Натрия борат, декагидрат 0,1 - 0,3%



Паспорт безопасности доступен на сайте techdocs.beckmancoulter.com

ПОЛУЧЕНИЕ, ОБРАБОТКА, ХРАНЕНИЕ И РАЗВЕДЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Сыворотка крови

- Собрать кровь в чистые сухие пробирки.
- Отделить сыворотку крови центрифугированием.
- Образцы сыворотки крови можно хранить при 2-8°C в течение 24 часов, при температуре < -18°C - не более 2 месяцев, а при < -80°C - до 1 года. Чтобы исключить повторные циклы замораживания и оттаивания, рекомендуется разделить пробы на несколько аликвот. Анализируемые образцы следует размораживать при комнатной температуре.
- Если концентрация АФП в образце превышает концентрацию в максимальной калибровочной пробе, его следует развести фосфатным буфером.

Амниотическая жидкость

- Собрать амниотическую жидкость в чистые сухие пробирки.
- Образцы амниотической жидкости можно хранить в течение 24 часов при 2-8°C, при температуре < -18°C - не более 2 месяцев, а при -80°C - до 1 года. Для исключения повторного замораживания и оттаивания проб рекомендуется разделить их

на аликвоты. Анализируемые образцы следует размораживать при комнатной температуре.

- Образцы амниотической жидкости необходимо развести перед анализом фосфатным буфером в соотношении 1:100.

ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Все реагенты стабильны при 2-8°C до окончания срока годности набора указанного на этикетке. Сроки годности, указанные на этикетках флаконов с реагентами, относятся только к их хранению в производственных условиях вплоть до момента комплектации набора и не распространяются на полученную заказчиком продукцию.

Условия хранения реагентов после их восстановления или разведения указаны в разделе «Процедура».

Набор для определения АФП, 100 пробирок (Кат. № IM1441)

Пробирки, покрытые моноклональными антителами к АФП: 2 x 50 шт. (готовы к использованию)

Метка, раствор моноклональных антител к АФП, меченных ¹²⁵I: 1 флакон, 22 мл (готова к использованию)

На дату изготовления флакон содержит 320 кБк ¹²⁵I-иммуноглобулинов в буфере с бычьим сывороточным альбумином, красителем и азидом натрия (<0,1%).

Калибровочные пробы: 6 флаконов по 0,5 мл (готовы к использованию)

Калибровочные пробы содержат АФП в диапазоне концентраций от 0 до приблизительно 400 МЕ/мл в бычьей сыворотке с азидом натрия (< 0,1%). Точные концентрации, калиброванные по международному стандарту альфа-фетопротеина человека WHO 72/225, указаны на этикетках флаконов. (1 МЕ соответствует 1,21 нг АФП).

Контрольная сыворотка: 2 флакона (лиофилизированные препараты)

Флаконы содержат лиофилизованную сыворотку крови человека с известным содержанием АФП. Объем воды для растворения контрольных сывороток указан на этикетках флаконов, а ожидаемые диапазоны концентраций – на дополнительном листке-вкладыше.

Фосфатный буфер: 1 флакон, 30 мл, (готов к использованию)

В состав буферного раствора входит бычий сывороточный альбумин.

Промывочный раствор (20x): 1 флакон, 50 мл

Концентрированный раствор должен быть разведен перед использованием.

Набор для определения АФП, 400 пробирок (Кат. № IM3285)

Пробирки, покрытые моноклональными антителами к АФП: 8 x 50 шт. (готовы к использованию)

Метка, раствор моноклональных антител к АФП, меченных ¹²⁵I: 4 флакона по 22 мл (готовы к использованию)

Калибровочные пробы: 6 флаконов по 0,5 мл (готовы к использованию)

Контрольная сыворотка: 2 флакона (лиофилизированные препараты)

Фосфатный буфер: 4 флакона по 30 мл (готов к использованию)

Промывочный раствор (20X): 2 флакона по 50 мл

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Помимо стандартного лабораторного оборудования необходимо иметь следующее:

- микропипетки (50 мкл)
- полуавтоматические пипетки (150 мкл, 200 мкл, 2 мл)
- вихревой смеситель типа "Vortex"
- горизонтальный или орбитальный встряхиватель
- водоструйный насос
- гамма-счетчик для измерения активности ¹²⁵I

ПРОЦЕДУРА

Подготовка реагентов

Довести все реагенты до комнатной температуры.

Растворение контрольных сывороток

Растворить лиофилизированные препараты в объеме дистиллированной воды, указанной на этикетках флаконов. Через 10 минут аккуратно перемешать содержимое, избегая образования пены. Растворенные контрольные сыворотки можно разделить на аликвоты и хранить при < -18°C до окончания срока годности набора.

Приготовление промывочного раствора

Тщательно смешать содержимое флакона с концентратом и 950 мл дистиллированной воды. Подготовленный к работе промывочный раствор можно хранить при 2-8°C до окончания срока годности набора.

Процедура анализа

Довести все реагенты до комнатной температуры.

Стадия 1 1я инкубация	Стадия 2 Промывка
В покрытые антителами пробирки последовательно внести: 50 мкл калибровочных, контрольных и анализируемых проб и 150 мкл фосфатного буфера. Перемешать. Инкубировать 15 минут при 18-25°C и постоянном встряхивании (>280 осц./мин.).	Тщательно удалить содержимое пробирок. Внести по 2 мл промывочного раствора и тщательно удалить жидкость.

Стадия 3 2я инкубация	Стадия 4 Промывка и учет результатов
Во все пробирки внести по 200 мкл метки. Перемешать. Инкубировать 30 минут при 18-25°C и постоянном встряхивании (>280 осц./мин.).	Тщательно удалить содержимое пробирок (кроме проб «Т»). Внести в пробирки по 2 мл промывочного раствора и тщательно удалить жидкость. Измерить связанную (В) и общую (Т) активность ¹²⁵ I (имп./мин.) в течение 1 минуты.

*В две дополнительные пробирки внести по 200 мкл метки для оценки общей активности ¹²⁵I.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты рассчитывают методом интерполяции по калибровочной кривой, полученной одновременно с анализом неизвестных образцов.

Калибровочная кривая

Результаты контроля качества набора, указанные на отдельном листке-вкладыше, получены при построении калибровочной кривой в логарифмических координатах (сплайн-функция) с измеренной активностью ¹²⁵I (В-В₀, имп./мин.) по вертикальной оси и концентрацией АФП (МЕ/мл) по горизонтальной оси калибровочного графика. Другие методы обсчета могут давать несколько отличающиеся результаты.

Общий счет: 107.924 имп./мин.				
Калибраторы	АФП (МЕ/мл)	Имп./мин. (n=3)	В/Т (%)	ИМП/МИН _{cal} -ИМП/МИН _{cal0}
0	0	20	0,02	-
1	3	2 096	1,83	2 076
2	10	6 511	5,68	6 491
3	40	22 881	20,0	22 861
4	150	61 576	53,7	61 556
5	400	94 180	82,2	94 160

(Пример типичной калибровочной кривой. Не использовать для обсчета результатов.)

Образцы

Для каждого анализируемого образца сыворотки крови или разбавленной амниотической жидкости найти на вертикальной оси калибровочного графика значение В-В₀ (имп./мин.), а на горизонтальной оси - соответствующую концентрацию АФП в МЕ/мл. Результаты, полученные в разбавленных пробах, следует умножить на фактор разведения.

Для перевода концентраций из МЕ/мл в нг/мл нужно умножить полученный результат на 1,21.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Онкология - уровни АФП в норме

В каждой лаборатории рекомендуется установить собственные референсные уровни АФП на основании анализа статистически достоверного количества клинически охарактеризованных образцов. Результаты определения должны быть интерпретированы в свете общей клинической картины пациента, включая анамнез, данные других тестов и подходящую иную информацию.

Значения концентраций АФП в сыворотке крови 58 здоровых мужчин и 36 здоровой небеременной женщины приведены в таблице и являются ориентировочными.

	Кол-во образцов	Диапазон концентраций (МЕ/мл)	Медиана (МЕ/мл)
Мужчины	58	0,46 - 6,41	3,12
Женщины	36	0,49 - 9,84	1,94

Интерпретация результатов пренатального скрининга

Результаты определения должны быть интерпретированы в свете общей клинической картины пациента, включая анамнез, данные других тестов и подходящую иную информацию.

В каждой лаборатории рекомендуется установить собственные референсные уровни с помощью методики, выбранной для оценки риска присутствия синдрома Дауна. В этой связи изолированное определение уровня АФП не имеет диагностической ценности.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

В соответствии с требованиями Good laboratory practices для контроля качества проводимых исследований следует регулярно использовать контрольные образцы, которые должны проходить те же стадии анализа, что и анализируемые пробы. Результаты контроля качества рекомендуется обрабатывать с помощью специальных статистических методов.

В случае серьезного повреждения упаковки, или в случае несоответствия полученных результатов аналитическим характеристикам обратитесь, пожалуйста, к нашим специалистам. E-mail: imunochem@beckman.com или beckman.ru@beckman.com

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

(более подробная информация приведена в разделе "APPENDIX")

Репрезентативные данные предоставлены исключительно для пояснений. Показатели, полученные в конкретной лаборатории, могут отличаться.

Чувствительность

Аналитическая чувствительность: 0,11 МЕ/мл

Функциональная чувствительность: 0,2 МЕ/мл

Специфичность

Антитела, используемые в данном наборе, не имеют перекрестной реакции сывороточным альбумином, трансферрином и IgG человека, а также с гемоглобином и билирубином.

Воспроизводимость

Внутри анализа

Анализ образцов проводили в 25 репликатах в пределах одной серии определений. Коэффициент вариации измеренных уровней АФП в сыворотке крови не превышал 6,9% и 3,0% в амниотической жидкости.

Между анализами

Анализ образцов в дубликатах проводили в 10 различных сериях определений. Коэффициент вариации измеренных уровней АФП в сыворотке крови не превышал 6,3% и 10,9% в амниотической жидкости.

Точность

Тест на разведение

Образцы сыворотки крови с высоким содержанием АФП серийно разводили буфером и проводили анализ полученных проб. Измеренная величина "открытия" составляла от 86% до 111% в сыворотке крови и от 92% до 112% в амниотической жидкости.

Тест на открытие стандартной добавки

Известные количества АФП добавляли к образцам сыворотки крови с низким его содержанием и проводили анализ полученных проб. Измеренная величина открытия составляла от 88% до 108% в сыворотке крови и от 100% до 119% в амниотической жидкости.

Диапазон определений (от аналитической чувствительности до значения наивысшей калибровочной пробы): 0,11 до приблизительно 400 МЕ/мл.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Нарушение методики проведения анализа может привести к искажению результатов исследования.

Не используйте гемолизированные, желтушные или липемические образцы.

При выполнении анализов с использованием антител возможна интерференция гетерофильными антителами в пробе пациента. У пациентов, имеющих постоянный контакт с животными или проходивших иммунотерапию или диагностические процедуры с использованием иммуноглобулинов или их фрагментов, могут вырабатываться антитела (т.е. НАМА), которые влияют на результаты иммунного анализа.

Интерференция со стороны этих антител может привести к получению ошибочных результатов. Тщательно проверяйте результаты анализов пациентов с подозрением на наличие этих антител.

"Хук-эффект"

В двухстадийном методе "хук-эффект" отсутствует.

AFP IRMA KIT

REF IM1441, IM3285

硼酸 0.1 - 0.3%
十水合四硼酸钠 0.1 - 0.3%

可測定血清/羊水中 AFP 的定量，此法適用於體外診斷用途。

SDS 安全性資料表載於 techdocs.beckmancoulter.com

原理

甲型胎兒蛋白(AFP)免疫放射分析組是一種『三明治』分析法，利用 2 個直接對應 AFP 分子上不同抗原決定位 (epitopes)，因此不會互相競爭的老鼠單株抗體進行。將檢體或是校正液加入內有以碘 125 標示的第 2 個單株抗體、以及第 1 個單株抗體附著於上的試管內培養。培養完成後，將試管內液體抽掉，然後沖洗試管來清除未結合的 125I 標記抗體。以伽瑪計數器計算出結合放射性強度後，在標準曲線上利用內插法可以得到檢體內 AFP 濃度，此濃度與測得放射性強度成正比。

數據可用在：

- 腫瘤
- 與 hCG 及 E3 濃度有關唐氏症(trisomy21)危險評估。如此步驟已被證實。(Wald et al.: Brit Med J297,883-887,198)。強烈推薦使用有效的 (CE 標治) 軟體可明確地選定評估 Trisomy 21 的風險，如軟體 alpha™ (阿爾法是邏輯醫療系統商標)。

警告和預防措施

一般注意事項：

- 請勿混合不同批號之分析組試劑
- 每瓶的校正液和對照液應儘快打開以免過度揮發。
- 應建立各次分析的標準曲線-
- 建議進行分析兩次
- 各管均僅限單次使用

放射線安全的基本原則

放線性物質的購買、擁有、利用及運送均受到使用者當地國家的法規所規範。遵循放射線安全的基本原則理應可以提供適當的保護：

- 在放射性物質的使用區域中，不可吃東西、喝飲料、抽煙或使用化妝品
- 不可以用嘴來分注具有放射性的溶液
- 利用手套及實驗室防護衣來避免接觸所有放射性物質
- 所有放射性物質的處置均應在距離走廊及其他較多人走動之區域較遠的適當處進行
- 放射性物質應儲存於指定區域的容器中
- 所有放射性產物的接收和儲存記錄應及時更新。
- 易受污染的實驗室裝置和玻璃器皿應予以隔離，以防止不同的放射性同位素之間發生交叉感染。
- 應根據已確立的程序處理放射性污染或放射性物質丟失的個案。
- 應根據所在國家確立的原則處理放射性廢棄物。

疊氮化鈉

有些試劑中含有疊氮化鈉作為防腐劑，疊氮化鈉可能與鉛、銅或黃銅反應形成具有爆炸性的疊氮金屬物，因此在棄置時應以大量清水沖洗水管線系統。

人源材料

雖然此分析組中源自於人類的產品均經過測試，證明沒有 HIV 1 及 HIV 2 抗體、HCV 抗體、以及 B 型肝炎表面抗原 (HBsAg) 的存在，仍應視為具有傳染疾病能力的檢體來進行處理。目前沒有方法可以完全確定檢體中沒有病毒存在，因此檢體的處理應遵循所有必要的注意事項。

所有血清及血漿檢體均應視為具有傳染肝炎或 AIDS 能力來處置，廢棄物的棄置應遵循當地法規。

GHS 危害分類

Wash Solution (20X)	危險
	
H360	可能對生殖能力或胎兒造成傷害。
P201	使用前應獲取特殊說明。
P280	戴防護手套、穿防護服、戴眼睛/臉部防護物品。
P308+P313	如果已經暴露或對此有擔憂：尋求醫療建議/就醫。

檢體收集、處理、儲存、以及稀釋

血清樣品

- 將血液收集在有或無添加劑的試管中。
- 利用離心將血清或血漿與細胞分開。
- 若預計在 24 小時內進行分析，請將血清及血漿檢體儲存於 2-8°C 的溫度下。若需較長期儲存，請分裝後冷凍儲存低於 -18°C (最長 2 個月) 或低於 -80°C (最長 1 年)，避免重複的冷凍及解凍若檢體濃度高於最高標準液，建議以磷酸鹽緩衝液進行稀釋。
- 檢體濃度高於最高標準液，建議以磷酸鹽緩衝液進行稀釋。

羊水樣品

- 將羊水液收集在無添加劑的乾燥試管中。
- 若預計在 24 小時內進行分析，請將羊水液儲存於 2-8°C 的溫度下。若需較長期儲存，請分裝後冷凍儲存低於 -18°C (最長 2 個月) 或低於 -80°C (最長 1 年)，避免重複的冷凍及解凍。檢體必需在室溫下解凍。
- 在測定前將羊水檢體以 1:100 比例在磷酸鹽緩衝液中稀釋。

提供的材料

若將分析組的所有試劑儲存於 2-8°C 的溫度下，則所有分析組之試劑在其標籤指明的有效期限內都可維持穩定。印於

重製或稀釋後之試劑的儲存條件將於程序步驟章節中加以說明。

AFP 濃度分析組，100 管 (目錄編號 # IM1441)

以抗 AFP 單株抗體附著的試管：2 x 50 管 (現成可用)

¹²⁵I 標記的抗 AFP 單株抗體：每瓶 22 mL (現成可用)。

日期當時強度為 320 kBq 的 ¹²⁵I-免疫球蛋白，溶於含有牛血清白蛋白、疊氮化鈉 (<0.1%)、以及染料的緩衝液中。

AFP 校正液：6 瓶，每瓶 0.5 mL (現成可用)

校正液的小瓶中包含大約從 0 到 400 IU / mL AFP 與疊氮化鈉的牛血清 (<0.1%) 確實濃度標示於各瓶標籤上。這些校正液已經利用國際標準品 WHO 1st IRP 72/225 進行過校正，1 IU 相當於 1.21 ng AFP 國際單位。

對照血清：2 瓶 (冷凍乾燥品)

此瓶含有溶於人血清的 AFP 冷凍乾燥物，預期數值介於附錄中所註明的濃度範圍內。

磷酸鹽緩衝液：每瓶 30 mL (現成可用)

含有牛血清白蛋白

清洗液 (20x)：每瓶 50 mL

濃縮液，需在使用前進行稀釋。

AFP 濃度分析組，400 管 (目錄編號 # IM3285)

以抗 AFP 抗體附著的試管：8 x 50 管 (現成可用)

¹²⁵I 標記的抗 AFP 單株抗體：4 瓶，每瓶 22 mL (現成可用)

校正液：6 瓶，每瓶 0.5 mL (現成可用)

對照血清：2 瓶 (冷凍乾燥品)

磷酸鹽緩衝液：每瓶 30 mL (現成可用)

清洗液 (20x)：2 瓶，每瓶 50 mL

需要但未附的物品

除了一般實驗室設備以外，尚需要下列各物品

- 精確的微量吸管 (50 µL)
- 半自動分注吸管 (150 µL, 200 µL, 2 mL)
- 震盪型混合器
- 水平式或旋轉式搖動器
- 抽吸系統
- 適用 125I 的伽瑪計數器

程序

試劑的準備工作

讓所有試劑回到室溫

重建控制樣本

依據標籤上註明的蒸餾水量來重製瓶中的內容物，重製後靜置10分鐘，然後輕輕的混合，以避免在分注前產生氣泡。在分析組的有效期限內將重製溶液儲存在低於-18°C的溫度下。

清洗液的製備

依據標籤上註明950mL的蒸餾水量和 homogenize來重製瓶中的內容物。在分析組的有效期限內將重製溶液儲存在低於2-8°C的溫度下。

分析步驟總結：

讓所有試劑回到室溫

步驟一 第一次培養	步驟二 洗
在附著試管中，陸續加入： 50 µL的校正液或檢體 150 µL磷酸鹽緩衝液 然後混合 在18-25°C下培養15分鐘同時搖動 混合(以低於280rpm的速度)	沖洗仔細 加入 2 mL 沖洗液

步驟三 步驟二	第二次培養 洗
加 200 µL的追蹤劑* 然後混合 在18-25°C下培養30分鐘同時搖動 混合(以低於280rpm的速度)	小心抽掉管內溶液(除了總cpm 的2支試管外) 洗 2 mL 清洗液， 計算1分鐘內的結合 cpm(B) 及總cpm(T)

*在另外 2 管加入200 µL追蹤劑來獲得總 cpm。

結果

在標準曲線上進行內插法來獲得結果，標準曲線適用於與校正液同時進行檢測之檢體內的AFP濃度分析。

標準曲線

包裝內頁上的結果是利用以校正液的測得放射線強度($\text{cpm}_{\text{cal}} - \text{cpm}_{\text{cal0}}$)為縱軸、AFP濃度(IU/mL)為橫軸的對數-對數曲線(曲面模型, spline mode)計算而得。利用其他資料縮減的統計方法所得到的結果可能會

總強度: 107,924 cpm				
校正液	(IU/mL)	cpm (3次)	B/T(%)	$\text{cpm}_{\text{cal}} - \text{cpm}_{\text{cal0}}$
0	0	20	0.02	-
1	3	2,096	1.83	2,076
2	10	6,511	5.68	6,491
3	40	22,881	20.0	22,861
4	150	61,576	53.7	61,556
5	400	94,180	82.2	94,160

(標準曲線範例，請勿用此進行計算)

檢體

在縱軸上定出各檢體數值($\text{cpm}_{\text{sample}} - \text{cpm}_{\text{cal0}}$)，然後在橫軸上對出AFP度(IU/mL為單位)。經稀釋的檢體需以稀釋倍數來校正。濃度稀釋改正樣品。

乘以1.21轉換IU/mL成ng/mL。

預期數值

腫瘤學—正常血清AFP濃度

我們建議各實驗室應利用有臨床特徵的血清來建立自有參考數值，我們的數值僅供參考。

下列數值來自明顯健康的受試者。58男性,36女性。

	檢體數目	濃度範圍 (IU/mL)	中間(IU/mL)
男	58	0.46 - 6.41	3.12
女	36	0.49 - 9.84	1.94

先天畸形篩查

應該根據患者的總臨床敘述解釋結果，包括臨床的歷史、從另外的測試數據和其他適當的信息。

實驗室應該建立他們選擇了為下來綜合症狀風險評估的他們自己的參考價值根據方法。在這上下文外面，被隔絕的AFP資料單獨沒有診斷價值。

品質控制

優良實驗室規範表示定期利用對照檢體來確認所得結果的品質，且必須利用與分析檢體完全相同的方式來進行這些檢體的分析，並且建議利用適當的統計方法來分析所得結果。

如果遇到包裝破碎或所得結果出現一些偏差，請聯絡您的地區分銷商或使用這個E-mail地址：imunochem@beckman.com

性能特色

(更多詳情，請參閱數據表“附錄”)

提供代表的資料只為了說明用。每個實驗室所得到的結果都不同。

敏感度：

分析靈敏度：0.11 IU/mL

功能靈敏度：0.2 IU/mL

特異性

免疫分析組中所用的抗體對AFP有高度專一性，所以不會與包括在內的其他相關albumin, transferrin, immunoglobuline, haemo-globin, bilirubin 發生交叉反應。

精度

各次分析內

在同一次分析內，將檢體分析25次，所得的變異係數不高於6.9%血清樣品，3.0%羊水樣品。

各次分析間-

在10次不同分析內，以一式二份方式來分析檢體，所得的變異係數不高於6.3%血清樣品，10.9%羊水樣品。

準確性

稀釋試驗

高濃度檢體以空白校正液進行連續稀釋，所得的回收率介於86%及111%之間，羊水 92%-112%。

回收試驗

將不等量的AFP加入三個血清檢體中，再以上述分析步驟來分析這些檢體，所得的回收率為88%到108%之間，羊水 100%-119%

分析範圍(得自最高濃度校正液的分析靈敏度)：0.11至大約 400 IU/mL

限制

非指示在這說明書裡可以極大影響結果。

不要使用嚴重溶血或脂血標本。

為使用抗體的分析用試樣，可能為由heterophile抗體的干涉存在病人樣品中。通常病人被暴露在動物或接受了免疫療法或運用免疫球蛋白或免疫球蛋白片段的診斷過程也許生產抗體，即HAMA，干擾免疫測定法。

這樣干涉的抗體也許導致錯誤結果。如被懷疑有這些抗體小心地評估患者的結果。

假陽性作用

沒有假陽性作用因為有第二步做法被使用。

AFP IRMA KIT

REF IM1441, IM3285

IMUNORADIOMETRIJSKI TEST ZA IN VITRO ODREĐIVANJE AFP U HUMANOM SERUMU ILI AMNIONSKEJ TEČNOSTI

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu

PRINCIP

Test za određivanje AFP je vrsta "sendvič" testa koji se izvodi u dva koraka i koriste se dva mišja monoklonska antitela direktno protiv dva različita epitopa molekula. Uzorci ili kalibratori se inkubiraju u epruvetama obloženim sa jednim monoklonskim antitelom. Sadržaj epriveta se zatim aspirira i prisutan AFP u uzorku se inkubira sa sekundarnim monoklonskim antitelom obeleženim ¹²⁵I. Sadržaj u epruvetama se aspirira i vezana radioaktivnost se određuje gama brojačem. Koncentracija AFP u uzorku se dobija interpolacijom sa standardne krive. Koncentracija AFP u uzorku je direktno proporcionalna radioaktivnosti.

Dobijeni podaci se mogu koristiti:

- u onkologiji,
- zajedno sa koncentracijama hCG i nekonjugovanog estriola kod Down sindroma (trizomija 21) za procenu rizika. Ovakav pristup je verifikovan na osnovu multivarijantne analize Gausove distribucije (Wald et al.: Brit Med J 297,883-887;1988). Strogo je preporučeno da se koristi validiran (CE znak) software dizajniran specifično za procenu rizika za trizomiju 21, na primer software alfa™ (alfa je zaštitni znak za Logical Medical Systems).

UPOZORENJE I MERE OPREZA

Opšte napomene:

- Ne mešati reagense iz kitova različitih lotova.
- Bočice sa kalibratorima i kontrolama treba da budu otvorene što je kraće moguće da bi se izbeglo prekomerno isparavanje.
- Standardna kriva mora biti obuhvaćena sa svakim testom.
- Preporučeno je da se test vrši u duplikatu.
- Svaka epruveta mora da se upotrebi samo jednom.

Osnovna pravila bezbednosti od radijacije

Kupovina, posedovanje, upotreba i prenos radioaktivnog materijala je predmet regulative zemlje korisnika. Pridržavanje osnovnih pravila bezbednosti od radijacije treba da obezbedi adekvatnu zaštitu:

- Ne treba jesti, piti, pušiti ili nanositi kozmetiku u prisustvu radioaktivnih materijala.
- Ne pipetirati radioaktivni rastvor ustima.
- Izbegavati svaki kontakt sa radioaktivnim materijalom upotrebom rukavica i laboratorijskog kombinezona.
- Sva manipulacija radioaktivnim supstancama treba da se obavi u odgovarajućem prostoru, udaljenom od hodnika i drugih prometnih mesta.
- Radioaktivni materijali treba da se čuvaju u kontejnerima koji su obezbeđeni u označenom prostoru.
- Zapis o prijemu i skladištenju svih radioaktivnih proizvoda treba da se vodi ažurno.
- Laboratorijska oprema i stakleno posuđe koje je podložno kontaminaciji treba da budu razdvojeni da bi se izbegla unakrsna kontaminacija različitim radioizotopima.
- Svaki slučaj radioaktivne kontaminacije ili gubitka radioaktivnog materijala treba da bude rešen u skladu sa ustanovljenim procedurama.
- Postupanje sa radioaktivnim otpadom treba da bude u skladu sa pravilima utvrđenim u zemlji korisnika.

Natrijum azid


Neki reagensi sadrže natrijum azid kao konzervans. Natrijum azid može da reaguje sa olovom, bakrom ili mesingom i da formira eksplozivne metalne azide. Izbaciti reagense ispiranjem sa velikom količinom vode kroz vodovodne instalacije.

Materijali humanog porekla

Materijal humanog porekla, sadržanog u ovom kitu, je negativan na prisustvo antitela na HIV 1 i HIV 2, antitela na HCV, kao i na Hepatitis B površinski antigen (HBsAg). Štaviše, sa njima treba rukovati kao da su mogući prenosnici bolesti. Ni jedna poznata metoda testiranja ne može u potpunosti potvrditi da virus nije prisutan. Rukujte sa ovim kitom sa svom neophodnom predostrožnošću.

Sa svim uzorcima seruma treba postupati kao da su sposobni za prenos hepatitisa ili AIDS-a tako da otpad treba odlagati u skladu sa propisima.

GHS KLASIFIKACIJA OPASNOSTI

Wash Solution (20X)	OPASNOST	
		
	H360	Može da ošteti plodnost ili nerođeno dete.
	P201	Potrebna su posebna uputstva pre upotrebe.
	P280	Nositi zaštitne rukavice, zaštitnu odeću i zaštitna sredstva za oči/lice.
	P308+P313	AKO ste izloženi ili zabrinuti: Potražite medicinski savet/mišljenje. Borna kiselina 0,1 - 0,3% Natrijum-borat dekahidrat 0,1 - 0,3%

SDS

Bezbednosni list je dostupan na internet adresi techdocs.beckmancoulter.com

PRIKUPLJANJE UZORAKA, OBRADA, SKLADIŠTENJE I RAZBLAŽIVANJE

Uzorci seruma

- Krv sakupljati u epruvetama bez aditiva.
- Odvojite serum ili plazmu od ćelija centrifugiranjem.
- Uzorci seruma se mogu čuvati na 2-8°C, ako se testira u okviru 24 sata. Za duže kuvanje, potrebno je zamrznuti uzorak na <-18°C (2 meseca maksimalno) ili poželjno je na <-80°C (godinu dana maksimalno) u alikvotima kako bi se izbeglo ponovno zamrzavanje i održavanje. Odmrzavanje uzoraka se mora obaviti na sobnoj temperaturi.
- Ako uzorci imaju koncentraciju veću od najvećeg kalibratora, trebalo bi dalje uzorke razblažiti sa fosfatnim puferom.

Uzorci amnijske tečnosti

- Sakupiti amnijsku tečnost u suve epruvete bez dodataka.
- Uzorci amnijske tečnosti se mogu čuvati na 2-8°C, ako se testira u okviru 24 sata. Za duže kuvanje, potrebno je zamrznuti uzorak na <-18°C (2 meseca maksimalno) ili poželjno je na <-80°C (godinu dana maksimalno) u alikvotima kako bi se izbeglo ponovno zamrzavanje i održavanje. Odmrzavanje uzoraka se mora obaviti na sobnoj temperaturi.
- Uzorci amnijske tečnosti se razblažuju u odnosu 1:100 sa fosfatnim puferom pre analiziranja.

ISPORUČENI MATERIJALI

Svi reagensi kita su stabilni do isteka roka označenog na etiketi kita, pod uslovom da se čuvaju na 2-8°C. Rokovi odštampani na etiketama bočica važe za dugoročno skladištenje komponenti samo od strane proizvođača, pre sastavljanja kita. Ovo ne uzimajte u obzir.

Uslovi skladištenja za reagense nakon rekonstitucije ili razblaživanja navedeni su u proceduri u odeljku.

Pakovanje za određivanje AFP, 100 epruveta (Kat broj IM1441)

Anti-AFP monoklonskim antitelima obložene epruvete: 2x50 epruveta (spremne za upotrebu)

Monoklonski ¹²⁵I obeležen anti-renin obeleživač antitelo: jedna 22 mL bočica (spremna za upotrebu)

Na dan proizvodnje, bočica sadrži 320 kBq od ¹²⁵I-obeležene anti-renin antitela u puferu sa goveđim serumskim albuminom, natrijum azidom (<0,1%) i bojom.

AFP kalibratori: pet 0.5mL bočica (spremne za upotrebu)

Bočice kalibratora sadrže od 0 do približno 400 IU/ml AFP u goveđem serumu sa natrijum azidom (<0.1%). Tačna koncentracija je navedena na svakoj etiketi bočice. Kalibratori su kalibrisani koristeći internacionalni referentni materijal alfa-fetoproteina, humani 72/225. (1IU WHO=1.21 ng AFP)

Kontrolni uzorci: dve bočice (liofilizovane)

Bočice sadrže AFP u vidu liofiliziranog humanog seruma. Očekivane koncentracije su naznačene u dodatku pakovanja testa.

Fosfatni pufer: jedna 30 mL bočica; spreman za upotrebu.

Bočica sadrži pufer sa goveđim serumskim albuminom.

Rastvor za pranje (20x): jedna bočica od 50 ml

Koncentrovani rastvor mora da se razblaži pre upotrebe.

Pakovanje za određivanje AFP, 400 epruveta (Kat broj IM3285)

Anti-AFP monoklonskim antitelima obložene epruvete: 8x50 epruveta (spremne za upotrebu)

Monoklonski ¹²⁵I obeležen anti-renin obeleživač antitelo: četiri 22 mL bočice (spremne za upotrebu)

AFP kalibratori: šest 0.5 mL bočica (spremne za upotrebu)

Kontrolni uzorci: dve bočice (liofilizovane)

Fosfatni pufer: četiri 30 mL bočice; spreman za upotrebu

Rastvor za pranje (20x): dve bočice od 50 ml

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU OBEZBEĐENI

Pored standardne laboratorijske opreme, potrebne su sledeće stavke:

- Precizne mikropipete (50 µL)
- Poluautomatske pipete (150 µL, 100 µL, 2 mL).
- Vorteks tip mešalice
- Horizontalni ili orbitalni šejker.
- Aspiracioni sistem
- Gama brojač za ¹²⁵I

POSTUPAK

Priprema reagenasa

Neka svi reagensi dostignu sobnu temperaturu.

Rekonstitucija kontrolnih uzoraka

Sadržaj bočica se rekonstituiše sa zapreminom destilovane vode navedenoj na etiketi. Sačekati najmanje 10 minuta i blago mešati da se izbegne penušanje pre sipanja. Rekonstituisane reagentse čuvati u obliku alikvota na < -18°C do datuma isteka roka naznačenog na pakovanju.

Priprema rastvora za pranje

Sipati sadržaj bočice u 950 ml destilovane vode i homogenizirajte ga. Razblažen rastvor se može čuvati na 2-8°C do isteka roka upotrebe.

Postupak testa

Neka svi reagensi dostignu sobnu temperaturu.

Korak 1 Prva Inkubacija	Korak 2 Ispiranje
U obložene epruvete, redom dodati: 50 µL kalibratora ili uzorka i 150 µL fosfatnog pufera. Promešati. Inkubirati 15 min na 18-25°C na mešalici podešenoj na >280rpm.	Aspirirati pažljivo sadržaj svake epruvete. Dva puta operite sa 2 ml rastvora za pranje i pažljivo aspirirajte.

Korak 3 Druga Inkubacija	Korak 4 Ispiranje i Brojanje
Dodati 200 µL obeleživača u sve epruvete. Promešati. Inkubirati 30 minuta na 18-25°C na mešalici podešenoj na >280rpm.	Pažljivo aspirirati sadržaj u svakoj epruveti (osim dve epruvete sa ukupnu aktivnost T). Ispirati epruvete sa 2mL wash solution i onda aspirirati. Brojati skok cpm (B) i ukupan cpm (T) za 1 min.

*Dodati 200 µl obeleživača u 2 dodatne epruvete radi dobijanja ukupnog cpm.

REZULTATI

Rezultati su dobijeni interpolacijom sa standardne krive. Kriva služi za određivanje koncentracije AFP u uzorcima izmerene u isto vreme kad i kalibratori.

Standardna kriva

Rezultati prikazani u ovom uputstvu za upotrebu su izračunati korišćenjem log-log krive ("spline" mod) sa određenom radioaktivnošću (cpm_{cal}-cpm_{cal,0}) na vertikalnoj osi i koncentracijom AFP u kalibratorima na horizontalnoj osi (IU/mL). Druge metode redukcije podataka mogu dati neznatno različite rezultate.

Ukupna aktivnost: 107.924 cpm				
Kalibratori	IU/ml	cpm (n=3)	B/T (%)	cpm _{cal} - cpm _{cal,0}
0	0	20	0,02	-
1	3	2.096	1,83	2.076
2	10	6.511	5,68	6.491
3	40	22.881	20,0	22.861
4	150	61.576	53,7	61.556
5	400	94.180	82,2	94.160

(Primer standardne krive, ne koristiti za proračun)

Uzorci

Locirati (cpm_{uzorak}-cpm_{cal,0}) vrednost za svaki serum ili razblaženu amnionsku tečnost na vertikalnoj osi standardne krive, pročitati koncentraciju AFP u uzorku na horizontalnoj osi u IU/mL. Koncentracija razblaženih uzoraka mora biti korigovana sa dilucionim faktorom.

Za pretvaranje IU/mL u ng/mL, pomnožiti rezultate sa 1,21.

OČEKIVANE VREDNOSTI

Onkologija - normalne serumske AFP koncentracije

Preporučljivo je da svaka laboratorija uspostavi svoje referentne vrednosti. Rezultate bi trebalo interpretirati u svetlu celokupne kliničke slike pacijenta, uključujući istoriju bolesti, podatke iz dodanih ispitivanja i druge informacije.

Sledeće vrednosti dobijene kod zdravih osoba su jedino indikativne. Serumske koncentracije AFP prikazane u abeli su dobijene kod 58 zdravih muškaraca i 36 zdravih žena donora.

	Broj uzoraka	Opseg koncentracija (IU/mL)	Medijana (IU/ml)
Osoba muškog pola	58	0,46 - 6,41	3,12
Osoba ženskog pola	36	0,49 - 9,84	1,94

Skrining kongenitalnih malformacija

Rezultate treba interpretirati u skladu sa celokupnom kliničkom slikom pacijenta, uključujući i kliničku istoriju, podatke iz dodatnih testova i drugim odgovarajućim informacijama.

Laboratorija bi trebalo da utvrdi svoje referentne vrednosti u skladu sa metodom koja je izabrana za procenu rizika za Down sindrom. Van ovog konteksta, izolovana AFP vrednost nema dijagnostičku vrednost.

KONTROLA KVALITETA

Dobra laboratorijska praksa nalaže da se kontrolni uzorci moraju redovno koristiti da bi se osigurao kvalitet dobijenih rezultata. Ti uzorci se moraju obraditi na potpuno isti način kao i testirani uzorci, i preporučeno je da se njihovi rezultati analiziraju upotrebom odgovarajućih statističkih metoda.

U slučaju oštećenja pakovanja ili ako dobijeni podaci pokazuju neku promenu performansi, molimo da kontaktirate vašeg lokalnog distributera ili upotrebite sledeću e-mail adresu: imunochem@beckman.com

KARAKTERISTIKE PERFORMANSI

(za više detalja, videti "DODATAK")

Reprezentativni podaci su obezbeđeni u svrhu ilustracije. Performanse dobijene u pojedinačnim laboratorijama mogu da variraju.

Osetljivost

Analitička osetljivost: 0.11 IU/mL

Funkcionalna osetljivost: 0.2 IU/mL

Specifičnost

Antitela korišćeni u ovom testu su ne pokazuju ukrštene reakcije sa humanim serumskim albuminom, transferinom, humanim IgG, hemoglobinom ili bilirubinom.

Preciznost

Unutar serije

Uzorci seruma su testirani 25 puta u istoj seriji. Ustanovljeni su koeficijenti varijacije manji ili jednaki 6.9% za serum i 3.0% za amnijsku tečnost.

Između serija

Uzorci seruma su testirani u duplikatu u 10 različitih serija. Ustanovljeni su koeficijenti varijacije koji su manji ili jednaki 6.3% za serum i 10.9% za amnijsku tečnost.

Tačnost

Test razblaživanja

Uzorci plazme sa visokom koncentracijom su serijski razblaženi sa fosfatnim puferom. Dobijeni recovery procenti su bili između 86 % i 111 % za serum i između 92% i 112% za amnijsku tečnost.

Recovery test

Uzorci plazme sa niskom koncentracijom su dodate poznate količine AFP. Dobijeni recovery procenti su bili između 88 % i 108 % za serum i između 100% i 119% za amnijsku tečnost.

Opseg određivanja (od analitičke osetljivosti do najvišeg kalibratora): 0.11 do 400 IU/mL.

OGRANIČENJA

Ne pridržavanje instrukcija u ovom uputstvu pakovanja može značajno da utiče na rezultate.

Ne koriste se hemolizovani, ikterični ili lipemični uzorci.

Za testove koji upotrebljavaju antitela, postoji mogućnost mešanja od strane heterofilnih antitela u uzorku pacijenta. Pacijenti koji su bili redovno izloženi životinjama ili su primili imunoterapiju ili dijagnostičke procedure koje koriste imunoglobuline ili imunoglobulinske fragmente mogu proizvesti antitela, npr. HAMA, koji utiču na imunotestove.

Takva interferirajuća antitela mogu uzrokovati pogrešne rezultate. Pažljivo procenite rezultate pacijenata za koje se sumnja da imaju ova antitela.

Hook efekat

Pri izvođenju dvostepenog postupka nema Hook-ovog efekta.

APPENDIX

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Representative data are provided for illustration only. Performance obtained in individual laboratories may vary.

Precision

Intra-assay

Serum	A	B	C
Number of determinations	25	25	25
Mean (IU/mL)	20.0	35.7	87.5
CV (%)	6.9	2.7	2.6

Amniotic fluid	1	2	3
Number of determinations	25	25	25
Mean value (IU/mL)	25.19	69.53	223.9
CV (%)	2.72	1.72	3.03

Inter-assay

Serum	A	B	C
Number of determinations	10	10	10
Mean (IU/mL)	31.1	61.2	75.7
CV (%)	6.2	6.3	5.4

Amniotic fluid	2	5	9
Number of determinations	10	10	10
Mean value (IU/mL)	29.26	68.33	164.1
CV (%)	10.9	7.35	7.55

Accuracy

Dilution test

Five samples of sera were diluted and assayed.

Serum	Dilution	Expected conc. (IU/mL)	Measured conc. (IU/mL)	Ratio (%) Measured/Expected
A	undiluted	-	124	-
	1:2	61.9	61.7	100
	1:4	30.9	31.4	101
	1:8	15.5	15.6	101
	1:16	7.73	7.52	97.3
	1:32	3.87	3.91	101
	1:64	1.93	1.66	85.9
B	undiluted	-	189	-
	1:2	94.5	86.3	91.3
	1:4	47.2	46.5	98.4
	1:8	23.6	22.9	96.7
	1:16	11.8	11.7	98.7
	1:32	5.90	6.02	102
	1:64	2.95	2.62	88.7
C	undiluted	-	134	-
	1:2	66.9	70.0	105
	1:4	33.4	37.3	111
	1:8	16.7	18.4	110
	1:16	8.36	8.75	105
	1:32	4.18	4.34	104
	1:64	20.9	2.04	97.6
D	undiluted	-	231	-
	1:2	115	116	100
	1:4	57.7	58.8	102
	1:8	28.8	30.5	106
	1:16	14.4	14.5	101
	1:32	7.21	7.07	98.1
	1:64	3.60	3.37	93.5
1:128	1.80	1.60	88.8	
E	undiluted	-	121	-
	1:2	60.5	56.5	93.4
	1:4	30.2	30.6	101
	1:8	15.1	15.4	102
	1:16	7.56	7.94	105
	1:32	3.78	3.67	97.1
	1:64	1.89	1.87	99.0

Five samples of amniotic fluid were diluted and assayed

Amniotic fluid	Dilution	AFP (IU/mL)		Ratio (%) Measured/Expected
		Measured	Expected	
		Concentration		
S1	1:100	102.0	-	-
	1:200	52.70	51.00	103
	1:400	27.80	25.50	109
	1:800	14.30	12.75	112
	1:1600	7.14	6.38	112
	1:3200	3.27	3.19	103
S2	1:100	124.0	-	-
	1:200	61.60	62.00	99.3
	1:400	33.20	31.00	107
	1:800	15.40	15.50	99.4
	1:1600	8.00	7.75	103
	1:3200	4.06	3.88	105
S3	1:100	179.0	-	-
	1:200	84.30	89.50	94.2
	1:400	45.10	44.75	101
	1:800	23.10	22.38	103
	1:1600	11.80	11.19	106
	1:3200	5.76	5.59	103
S4	1:100	122.0	-	-
	1:200	61.80	61.00	101
	1:400	31.40	30.90	102
	1:800	16.00	15.45	104
	1:1600	8.24	7.73	107
	1:3200	4.07	3.86	105
S5	1:100	263.0	-	-
	1:200	121.0	131.5	92.0
	1:400	64.80	65.75	98.6
	1:800	34.30	32.88	104
	1:1600	17.20	16.44	105
	1:3200	8.47	8.22	103

Recovery test

AFP was added to five serum samples and assayed according to the procedure of the kit.

Endogen. conc. (IU/mL)	Added AFP (IU/mL)	Expected conc. (IU/mL)	Measured conc. (IU/mL)	Ratio (%) Measured/Expected
6.26	1.00	7.26	7.80	108
6.26	4.00	10.3	10.9	106
6.26	15.0	21.3	21.8	103
20.4	4.00	24.4	24.2	99.1
21.1	27.6	48.7	47.3	97.1
20.4	68.0	88.4	80.3	90.8
41.0	10.4	51.4	50.0	97.2
41.0	46.9	87.9	81.0	92.1
39.7	132	172	150	87.6
56.2	10.4	66.5	65.0	97.7
54.3	68.0	122	116	94.8
56.2	183	239	239	100
78.6	15.0	93.6	91.0	97.2
81.3	91.0	172	170	98.6
78.6	265	344	348	101

AFP was added to five samples of amniotic fluid and assayed according to the procedure of the kit














Endogen. conc. (IU/mL)	Added AFP (IU/mL)	Expected conc. (IU/mL)	Measured conc. (IU/mL)	Ratio (%) Measured/Expected
55.11	16.20	71.31	76.16	107
54.76	48.28	103.0	110.0	107
54.25	94.43	148.7	153.6	103
26.43	7.49	33.92	38.00	112
26.34	23.64	49.98	59.24	119
26.21	48.28	74.49	84.39	113
70.61	23.64	94.25	105.5	112
69.94	71.46	141.4	152.9	108
68.97	139.7	208.7	243.9	117
106.6	39.68	146.3	153.6	105
104.9	117.2	222.1	247.5	111
102.5	229.0	331.5	371.2	112
11.78	3.60	15.38	15.42	100
11.61	10.76	22.38	23.21	104
11.37	20.96	32.33	34.83	108

¹²⁵I Characteristics

T_{1/2} (¹²⁵I) = 1443 h = 60.14 d

¹²⁵ I	E (MeV)	%
γ	0.035	
X	0.027	114
	0.032	25

Symbols Key

-  **REF** Product Reference / Référéncie du produit / Produktreferenz / Riferimento prodotto / Número de referencia del producto / Referência do produto / Produktreferens / Κωδικός αναφοράς προϊόντος / 产品参考 / Gaminio nuoroda / Termékszám / Dane referencyjne produktu / Reference k produktu / Referenčné označenie výrobku / 제품 참조 자료 / Ürün Referansı / Ссылка на продукт / Референция за продукт / 產品參考
-  **IVD** In Vitro Diagnostic / Diagnostic in vitro / In-vitro-Diagnostikum / Diagnostica in vitro / Para diagnóstico in vitro / Diagnóstico in vitro / InVitro-diagnostik / Για διάγνωση in vitro / 体外诊断 / In vitro diagnostika / In vitro diagnosztikai felhasználásra / Diagnostyka in vitro / Diagnostika in vitro / 체외 진단 / In Vitro Diagnostik / Diagnostika in vitro / Ин vitro диагностика / 體外診斷
-  **CONTENTS** Contents / Contenu / Inhalt / Contenuto / Contenido / Conteúdo / Περιεχόμενα / 组成 / Rinkinio sudėtis / Tartalom / Zawartość / Obsah / Obsah / 내용물 / İçindekiler / Содержание / Съдържание / 目錄
-  **Manufactured by / Fabriqué par / Hergestellt von / Prodotto da / Fabricado por / Tillverkas av / Κατασκευαστής / 制造商 / Gamintojas / Gyártó / Producent / Výrobce / Výrobca / 제조 / Üretici / Изготовлено / Произведено от / 製造商**
-  **Σ** Contains sufficient for <n> tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenido suficiente para <n> ensayos / Conteúdo suficiente para "n" ensaios / Rækker til "n" antal tester / Περιεχόμενο επαρκές για "n" εξετάσεις / 含量足够 <n> 次测试 / Turinio pakanka <n> tyrim / <n> teszthez elegendő mennyiségű tartalmaz / Zawartość wystarcza na <n> testów / Lze použít pro <n> testů / Obsah vystačí na <n> testov / <n> 테스트에 대해 충분한 양 포함 / <n> sayida test için yeterlidir / Содержит достаточно для количества тестов: <n> / Съдържа достатъчно за <n> теста / 内容物足夠執行 <n> 次測試
-  **CE** CE Mark / Marquage CE / CE-Kennzeichnung / Marchio CE / Marcado CE / Marcação CE / CE-märkning / Σήμανση CE / CE 标志 / CE ženklas / CE jelzés / Znak CE / Značka CE / Označenie CE / CE 표시 / CE İşareti / Маркировка CE / CE маркировка / CE 標識
-  **SDS** Safety Data Sheet / Fiche technique santé-sécurité / Sicherheitsdatenblatt / Scheda dati di sicurezza / Hoja de datos de seguridad / Ficha de Dados de Segurança / Säkerhetsdatablad / Φύλλο Δεδομένων Ασφάλειας / 安全数据单 / Saugos duomenų lapas / Biztonsági adatlap / Karta Charakterystyki Bezpieczeństwa / Bezpečnostní list / Bezpečnostný list / 안전보건자료 / Güvenlik Bilgi Formu / Паспорт безопасности / Информационен Лист За Безопасност / 安全性資料表
-  **Consult Instructions for Use / Consultez le mode d'emploi / Siehe Gebrauchsanweisung / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las Instrucciones de uso / Instruções de utilização / Konsultera bruksanvisning / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / 请参阅使用说明 / Skaitykite naudojimo instrukciją / Olvassa el a használati utasítást / Zapoznać się z instrukcją użycia / Postupujte podle návodu k použití / Prečítajte si návod na použitie / 사용 안내 문외 / Kullanna Talimatına Başvurun / Обратитесь к инструкциям / Вижте Инструкциите за употреба / 請參閱使用說明**
-  **Temperature range(s) / Plage(s) de température / Temperaturbereich(e) / Intervallo/i di temperatura / Intervalo(s) de temperatura / Intervalo(s) de temperatura / Temperaturintervall / Εύρος(-η) θερμοκρασίας / 溫度範圍 / Temperatūros diapazonas (-ai) / Hőmérséklet-tartomány(ok) / Zakres(y) temperatury / Rozsahy teplot / Rozsah(y) teploty / 온도 범위 / Sıcaklık aralıkları / Диапазон(-ы) температуры / Температурен(ни) диапазон(и) / 溫度範圍**
-  **Caution / Précaution / Achtung / Attenzione / Precaución / Atenção / Försiktighet / Προσοχή / 注意事项 / Įspėjimas / Figyelem / Uwaga / Urozornění / Urozornenie / 주의 / Dikkat / Внимание / 注意**
-  **Expiration Date / Date D'expiration / Verfallsdatum, Verw. bis: / Data Di Scadenza / Fecha De Caducidad / Data de validade / Utgångsdatum / Ημερομηνία λήξης / 失效日期 / Galiojimo data / Lejárati idő / Data ważności / Datum expirace / Datum expirácie / 만료 날짜 / Son Kullanma Tarihi / Срок годности / Срок на годност / 到期日**
-  **LOT** Lot Number / Numéro de lot / Chargennummer / Numero di lotto / Lote número / Número de lote / Satsnummer / Αριθ. παρτίδας / 批次号 / partijos numeris / Tételszám / Numer serii / Číslo šarže / 로트 번호 / Lot Numarası / Номер партии / Номер на партида / 批號
-  **Date of Manufacture / Date de Fabrication / Herstellungsdatum / Data di Fabbricazione / Fecha de Fabricación / Data de Fabrico / Produktionsdatum / Ημερομηνία Παραγωγής / 生产日期 / Pagaminimo Data / Gyártás Dátuma / Data Produkcji / Datum Výroby / Datum Výroby / 제조 일자 / Üretim Tarihi / Дата Производства / Дата на Производство / 製造日期**



Biohazard / Risque biologique / Biogefährdung / Rischio biologico / Riesgo biológico / Risco biológico / Biologisk fara / Βιολογικός κίνδυνος / 生物危害 / Biologisk fara / Veszélyes biológiai anyag / Zagrożenie biologiczne / Biologické riziko / Biologické riziko / 생물학적 위험 / Biolojik tehlike / Биологическая опасность / Биологична опасност / 生物危害



Radioactive / Radioactif / Radioaktiv / Radioattivo / Radiactivo / Radioactivo / Radioaktivt / Ραδιενεργό / 放射性 / Radioaktyvioji medžiaga / Radioaktiv / Radioaktywny / Radioaktivní / Rádioaktívny / 방사성 / Radyoaktif / Радиоактивный / Радиоактивен / 具放射性

DANGER

DANGER / DANGER / GEFAHR / PERICOLO / PELIGRO / PERIGO / FARA / ΚΙΝΔΥΝΟΣ / 危險 / PAVOJUS / VESZÉLY / NIEBEZPIECZENSTWO / NEBEZPEČÍ / NEBEZPEČENSTVO / 위험 / ТЕΗΛΙΚΕ / ОПАСНО / ОПАСНОСТ / 危險

Ag ^{125I}

Ab ^{125I}

Tracer / Traceur / Tracer / Marcato / Trazador / Marcador / Tracer / Ανιχνευτής / 追踪剂 / Atekamoji medžiaga / Nyomjelző / Znacznik / Radioindikátor / Indikátor (tracer) / 트레이서 / Tracer'lar / метка / Индикатор / 追蹤劑

CAL

CAL **0**

Calibrator / Calibrateur / Kalibrator / Calibratore / Calibrador / Calibrador / Kalibrator / Βαθμονομητής / 校准品 / Kalibravimo medžiaga / Kalibrátor / Kalibrator / kalibrátor / Kalibrátor / 보정 물질 / Kalibrátor / Калибратор / Калибратор / 校正液

CTRL

Control / Contrôle / Kontrolle / Controlla / Control / Controla / Kontrolle / Μάρτυρας / 质控品 / Kontroliné / Kontroll / Kontrola / Kontrola / Kontrola / 정도관리 / Kontrol / Контроль / Контролна / 质控品

TUBE

Tubes / tubes / Röhrchen / provette / tubos / Tubos de amostra / Provrór / σωληνάρια / 试管 / Mégintüveliai / Csövek / Probówki / Zkumavky / Skúmvavky / 튜브 / Túpler / пробирки / Bulgarian / 試管

IFU

Instruction for Use / Mode d'emploi / Gebrauchsanweisung / Istruzioni per l'uso / Instrucciones de uso / Instruções de utilização / Bruksanvisning / Οδηγίες χρήσης / 使用说明 / Naudojimo instrukcija / Használati utasítás / Instrukcja użycia / Návod k použití / Návod na použitie / 사용 안내 / Kullanma Talimatı / Инструкции / Инструкции за употреба / 使用说明

SOLN **WASH** **20x**

Wash Solution Concentrate 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Waschlösungskonzentrat 20X / Concentrato di soluzione di lavaggio 20X / Solución de lavado concentrada 20X / Concentrado de solução de lavagem 20X / Tvättlösningskoncentrat 20X / Συμπυκνωμένο διάλυμα πλύσης 20X / 濃縮清洗液 20X / Plovimo tirpalas koncentratas 20X / 20X mosóoldat-koncentrátum / Koncentrat 20X roztworu płuczącego / Koncentrát mycího roztoku 20X / Koncentrát premývacieho roztoku 20X / 농축 세척액(20배) / Yıkama Çözeltisi Konsantresi 20X / Концентрат промывочного раствора 20X / Концентрат на разтвор за промиване 20X / 清洗溶液濃縮 20X

BUF

Buffer, Tampon, Puffer, Tampone, Tampón, Tampão, Buffert, Ρυθμιστικό διάλυμα, 缓冲液, Buferinis tirpalas, Puffer, Bufor, Pufur, Tlmitivý roztok, 완충, Tampon, Буфер, буфер, 緩衝劑

26 September 2019