НАБІР ІФА

ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ РОЗЧИННИХ ФРАГМЕНТІВ ЦИТОКЕРАТИНУ 19 (CYFRA 21-1)

211-10, CYFRA 21-1 EIA

Каталог. №: ***211-10*** *Методика від* ***05-2011***
Кількість : ***96***
Виробник : ***Fujirebio Diagnostics, Inc., (Швеція)***

Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

ПРИЗНАЧЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ
Набір CYFRA 21-1 EIA призначений для кількісного визначення фрагментів розчинного Цитокератину 19 у сироватці крові людини. Аналіз повинен бути використаний як допоміжний засіб моніторингу прогресування захворювання в ході хвороби і лікування у хворих на рак легені. Серійний тестування на пацієнта значень аналітичних CYFRA 21-1 слід використовувати у поєднанні з іншими клінічними методами, використовуваними для моніторингу раку легенів.

ВСТУП І ПОЯСНЕННЯ МЕТОДУ *(Див. оригінал інструкції англ.. мовою).*

ПРИНЦИП МЕТОДУ
Справжній набір є твердофазовим, неконкурентним методом, заснованим на двох моноклональних антитілах (отримані від мишей), спрямованих проти двох окремих антигенних детермінант розчинних фрагментів цитокератину 19. Стандарти, контролі і зразки пацієнтів інкубуються разом з біотинильованими анти-CYFRA 21-1 моноклональними антитілами і антитілами, міченими пероксидазою хрону, в покритих стрептавідином лунках мікропланшета. Після інкубації смужки промиваються. Далі в кожну клітинку додається буферний реагент Субстрат/Хромоген (перекис водню і 3,3', 5,5' тетраметилбензидин) і проходить ферментна реакція. У процесі реакції розвивається блакитне забарвлення, якщо присутній антиген. Інтенсивність забарвлення пропорційна кількості CYFRA 21-1 в зразку.
Інтенсивність забарвлення вимірюється на мікропланшетному рідері при 620 нм (або можливо при 405 нм після додавання стоп-розчину). Стандартні криві будуються для кожного аналізу в координатах оптична щільність проти концентрації для кожного стандарту. Концентрація CYFRA 21-1 в зразках пацієнта розраховується з калібрувальної кривої.

РЕАГЕНТИ
- Кожен набір містить реагенти для 96 тестів.
- Термін придатності набору проставлений назовні коробки.
- Не використовуйте набір після закінчення терміну придатності.
- Не змішуйте реагенти з різних лотів і наборів.
- Зберігайте набір при 2-8 °C.
- Стабільність розкритих реагентів наведена в таблиці нижче, за умови, що вони не були контаміновані, зберігалися в ретельно закритих оригінальних упаковках і зберігаються і використовуються, як описано. Негайно повертайте реагенти в холодильник (2-8 °C) після використання.

Компонент	Кількість	Зберігання і стабільність після першого використання
Мікропланшет	1 планшет	2-8 °C до закінчення терміну придатності
12x8 мікролунок, покритих стрептавідином. Після розкриття негайно поверніть невикористані смужки в алюмінієвий пакет з осушувачем і ретельно запечатайте пакет, зберігайте сухим.		
Калібратор A CYFRA 21-1	1 x 8 мл	2-8 °C до закінчення терміну придатності
Фосфатно-сольовий буферний розчин, що містить бичачий сироватковий альбумін, інертний жовтий барвник і безазидний антимікробний консервант. Готовий до використання. Також може бути використаний для розведення зразків.		
Стандарти B-F CYFRA 21-1	5 флаконів x 1 мл, ліофілізовані	Стабільність після розведення 4 тижні при 2-8 °C 4 місяці при -20 °C і нижче
Ліофілізовані калібратори містять антиген CYFRA 21-1 в фосфатно-сольовому буферному розчині, що містить бичачий сироватковий альбумін, інертний жовтий барвник і безазидний антимікробний консервант. Перед використанням необхідно розвести з дистильованою або деіонізованою водою. **ЗАУВАЖЕННЯ:** точні концентрації CYFRA 21-1 зазначені на етикетках кожного флакона.		
Контролі CYFRA 21-1	2 флакона x 1 мл ліофілізовані	Стабільність після розведення 1 тиждень при 2-8 °C 4 місяці при -20 °C і нижче
Ліофілізовані контролі містять антиген CYFRA 21-1 в сироватковій матриці людини і безазидний антимікробний консервант. Перед використанням необхідно розвести з дистильованою або деіонізованою водою.		
Біотинильовані Анти-CYFRA 21-1	1 флакон x 15 мл	2-8 °C до закінчення терміну придатності, вказаного на флаконі
Біотинильоване Анти-CYFRA 21-1 моноклональне мишаче антитіло, ~ 1.25 мкг/мл. Містить Tris-HCl буферний сольовий розчин (pH 7.2), бичачий сироватковий альбумін, блокуючі агенти, детергент, інертний блакитний барвник і безазидний антимікробний консервант. Перед використанням змішати з Трейсером.		
Трейсер, HRP-мічений анти-CYFRA 21-1	1 флакон x 0.75 мл	2-8 °C до закінчення терміну придатності, вказаного на флаконі
Сток-розчин кон'югату пероксидази хрону з анти-CYFRA 21-1 моноклональними мишачими антитілами, ~ 42 мкг/мл. Містить безазидний антимікробний консервант. Перед використанням повинен бути змішаний з біотинильованим анти-CYFRA 21-1.		
Субстрат ТМБ-HRP	1 флакон x 12 мл	2-8 °C до закінчення терміну придатності, вказаного на флаконі
Містить забуферений розчин перекису водню і 3,3', 5,5' Тетраметилбензидин (TMB). Готовий до використання.		
Стоп-розчин	1 флакон x 15 мл	2-8 °C до закінчення терміну придатності, вказаного на флаконі
Містить 0,12 М соляної кислоти. Готовий до використання.		
Концентрат промивального буфера	1 флакон x 50 мл	2-8 °C до закінчення терміну придатності, вказаного на флаконі
Містить TPIC-HCl сольовий розчин з TBIH 20 і Germall II як консервант. Повинен бути розведений перед використанням в 25 разів дистильованою або деіонізованою водою.		

Ознаки нестабільності

Розчин субстрату TMB повинен бути безбарвний або злегка блакитний. Блакитний колір свідчить про забруднення реагенту і розчин повинен бути викинутий.

ЗАУВАЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ
Для використання в in-Vitro діагностиці:
- Дотримуйтесь інструкцій у листку-вкладиші. Надійність результатів аналізу не може бути гарантована, якщо є якісь відхилення від інструкції.
- Поводитися зі зразками пацієнтів як з потенційно інфекційними. Рекомендується обробляти реагенти людського походження і зразки людини відповідно до Стандарту OSHA щодо патогенів Bloodborne (19). Рівень біобезпеки 2 (20) або інші відповідні практики біобезпеки повинні використовуватися для матеріалу, який містить або є підозра, що містить, інфекційні агенти.
- Уникайте контакту з реагентами, що містять перекис водню або соляну кислоту. У разі контакту з будь-яким з цих реагентів, ретельно промийте водою.
- Дотримуйтесь місцевих керівних принципів при утилізації всіх відходів.

Увага
Матеріали людського походження, використані при виробництві реагентів даного набору, були протестовані з негативними результатами на антитіла до ВІЛ 1 та 2, антитіла до ВГС і поверхневого антигену гепатиту В (HBsAg). Оскільки не існує методу, який повністю гарантує відсутність інфекційних захворювань, що передаються з кров'ю, то з усіма матеріалами людського походження необхідно поводитись як з потенційно інфекційно небезпечними.

ЗБІР І РОБОТА ЗІ ЗРАЗКАМИ

Набір розроблений для використання сироватки. Зберіть кров з вени і відокремте сироватку, дотримуючись загальноприйнятих процедур. Зразки можуть зберігатися при 2-8 °C протягом 1 дня. Для тривалого часу зберігайте зразки при -40 °C або нижче. Уникайте повторних циклів заморожування-відтавання. Для аліквот вибирайте пробірки підходящого об'єму, тим самим обмежуючи порожній простір в пробірці. Заморожені зразки перед аналізом необхідно довести до кімнатної температури і ретельно перемішати. *Змішування зразків з використанням електричних вібраційних змішувачів (Vortex) має бути обмежено максимум 1 секундою.*

ПРОЦЕДУРА

Необхідні матеріали, що не поставляються з набором

1. **Мікропланшетний шейкер**
   Струшування має бути середнім або енергійним, близько 900 - 1100 коливань/хвилину.
2. **Пристрій для промивання мікропланшета**
   Автоматичний промивальний пристрій з можливістю виконувати від 1 до 6 циклів промивання з мінімальним обсягом наповнення 350 мкл/лунку/цикл промивки.
   Якщо не використовується автоматичний мікропланшетний вошер, можна застосувати Nunc Immuno-8 вошер для ручного промивання.
3. **Мікропланшетний Рідер**
   З довжиною хвилі 620 нм і/або 405 нм і діапазоном абсорбції від 0 до 3.0.
4. **Точні піпетки**
   З одноразовими пластиковими наконечниками для внесення мікрооб'ємів рідин. 8-канальна піпетка для внесення 100 мкл бажана, але не обов'язкова. Піпетки для дозування обсягів в мілілітрах.
5. **Дистильована або деіонізована вода**
   Для розведення стандартів, контролів та приготування промивних розчинів.

Примітки до методики

1. Повне розуміння даної інструкції необхідно для забезпечення належного використання набору CYFRA 21-1 EIA. Реагенти, що входять в комплект, призначені для використання як єдиний блок. Не змішуйте ідентичні реагенти з наборів, що мають різні номери партій. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності, вказаного на зовнішній стороні набору.
2. Реагенти необхідно привести до кімнатної температури (20-25 °C) перед використанням. Заморожені зразки повинні бути м'яко, але ретельно перемішані обережним перевертанням флаконів після відтавання. *Змішування зразків з використанням електричного вібраційного змішувача (Vortex) має бути обмежено максимум 1 секундою.* Для аліквот вибрати правильний розмір пробірки, щоб обмежити порожній простір в пробірці.
3. Перш ніж приступити до піпетування калібраторів і невідомих зразків, доцільно позначити смужки, щоб мати можливість чітко визначити зразки під час і після аналізу.
4. Вимога ефективної і ретельної промивки для розділення зв'язаного і незв'язаного антигену і реагентів від зв'язаних твердо фазових комплексів антитіло-антиген є одним з найбільш важливих кроків в ІФА. З метою забезпечення ефективного промивання переконатися, що всі лунки повністю заповнені до верхнього краю розчином для промивання протягом кожного циклу промивання, що промивний розчин розливають з необхідною швидкістю, що аспірація лунок між і після циклів промивання є повною і, що лунки порожні. Якщо є залишки рідин, інвертувати пластину і постукати нею по фільтрувальному паперу.
   - Автоматичний вошер: Дотримуйтесь інструкцій виробника щодо належного очищення та обслуговування і проводьте необхідну кількість циклів промивання до і після кожної стадії інкубації. Рекомендується використовувати режим роботи *смужка* і режим промивки *переповнення* з об'ємом заповнення 800 мкл. Пристрій для аспірації/промивання не слід залишати з Промивним Розчином протягом тривалого часу, так як голки можуть забитися через погане наповнення рідиною і аспірацію.
5. Субстрат TMB-HRP є дуже чутливим до забруднення. Для оптимальної стабільності TMB HRP-субстрату, залити необхідну кількість з флакона в ретельно промитий резервуар або дноразовий пластиковий лоток, щоб уникнути забруднення реагенту. Обов'язково використовуйте чисті одноразові пластикові піпетки (або наконечники).
6. Обов'язково використовуйте чисті одноразові пластикові наконечники піпеток і правильну точну техніку піпетування при роботі із зразками і реагентами. Не допускайте торкання піпеткою поверхні рідини, щоб уникнути перенесення забруднення. Належна техніка піпетування має особливе значення при поводженні зі зразками та розчином TMB-субстрату HRP.

Приготування реагентів	Стабільність приготовленого реагенту
Калібратори CYFRA 21-1	4 тижні при 2-8 °C 4 місяці при -20 °C або нижче

Додайте точно 1 мл дистильованої води в кожну пробірку. Дозвольте постояти 15 хвилин для розчинення і ретельно перемішайте. **ЗАУВАЖЕННЯ:** концентрація стандартів вказана на етикетках флаконів і повинна бути використана для розрахунку результатів. *Перемішування стандартів на вортексі не повинно перевищувати 1 секунди.*

Контролі CYFRA 21-1	4 тижні при 2-8 °C 4 місяці при -20 °C або нижче

Додайте 1 мл дистильованої води в кожну пробірку. Дозвольте постояти 15 хвилин для розчинення і ретельно перемішайте. **ЗАУВАЖЕННЯ:** діапазон контролів вказаний на етикетках флаконів. Змішайте тільки обережним збовтуванням або інверсією. *Перемішування контролів на вортексі не повинно перевищувати 1 секунди.*

Промивний розчин	2 тижні при 2-25 °C в герметичному контейнері

Налийте 50 мл промивного концентрату в чисту посудину і розбавте в 25 разів додаванням 1200 мл дистильованої або деіонізованої води для отримання буферного розчину для промивання.

Розчин антитіл	1 день при 2-8 °C

Приготуйте потрібний обєм Розчину Антитіл змішуванням 50 мкл Розчину Трейсера (мічених з ферментом антитіл) з 1 мл Розчину Біотінильованих Антитіл на смужку (див. таблицю нижче):

Кількість смужок	Трейсер, HRP Anti-CYFRA 21-1 (мкл)	Біотин Anti-CYFRA 21-1 (мл)
1	50	1
2	100	2
3	150	3
4	200	4
5	250	5
6	300	6
7	350	7
8	400	8
9	450	9
10	500	10
11	550	11
12	600	12

Переконайтеся, що використовуються тільки чисті пластикові або скляні посудини для приготування робочого розчину антитіл.

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Усі стандарти, контролі і зразки повинні аналізуватися в дублях. Калібрувальна крива повинна будуватися при кожній постановці аналізу. Перед використанням реагенти повинні бути приведені до кімнатної температури (20-25 °C).

1. Приготуйте розчини стандартів, контролів, антитіл і промивних буферів. Дуже важливо використовувати чисті ємності. Чітко дотримуйтесь інструкції.
2. Закріпіть необхідну кількість мікросмужок в тримачі. (Помістіть невикористовувані стрипи в пластиковий пакет з осушувачем і закрийте його). Промийте кожну смужку один раз розчином для промивання. Не промивайте більше смужок, чим збираєтеся використовувати протягом 30 хвилин.
3. Змішайте зразки обережним перевертанням. *Не змішуйте на Vortex протягом більше 1 секунди.* Внесіть 50 мкл CYFRA 21-1 Калібраторів (CAL A, B, C, D, E і F), Контролей 1 & 2 і невідомих зразків (невідомі - Unk) в лунки у відповідності з наступною схемою:

	1	2	3	4	5 і т.д.
A	Кал. A	Кал. E	Зразок 1		
B	Кал. A	Кал. E	Зразок 1		
C	Кал. B	Кал. F	Зразок 2		
D	Кал. B	Кал. F	Зразок 2		
E	Кал. C	Конт. 1			
F	Кал. C	Конт. 1			
G	Кал. D	Конт. 2			
H	Кал. D	Конт. 2			

4. Додайте 100 мкл Розчину антитіл в кожну лунку, використовуючи восьми канальну піпетку на 100 мкл (або точну піпетку на 100 мкл). Уникайте дотику наконечників до поверхні рідини.
5. Інкубуйте пластину на протязі 1 години (± 5 хвилин) при кімнатній температурі (20-25 °C) з постійним перемішуванням планшета на шейкері для мікропланшета.
6. Після інкубації видаліть рідину і промийте кожну смужку 6 разів.
7. Додайте 100 мкл субстрату ТМБ в кожну лунку, в тій же послідовності, як в п. 4. Розчин субстрату слід додавати по можливості швидко, щоб час між додаванням в першу і останню лунки не перевищував 5 хвилин.
8. Інкубуйте 30 хвилин (± 5 хвилин) при кімнатній температурі з постійним перемішуванням планшета на шейкері. Уникайте потрапляння прямого сонячного світла.
9. Негайно зчитайте оптичну щільність на рідері при 620 нм.

Альтернативний варіант
Якщо в лабораторії немає рідера з фільтром на 620 нм, оптична щільність може бути визначена як описано в кроці 9а.
9а. Додайте 100 мкл стоп-реагенту в кожну лунку і перемішайте. Після цього протягом 15 хвилин зчитайте оптичну щільність при 405 нм.

Діапазон вимірювання
CYFRA 21-1 EIA вимірює концентрації між 0.5 і приблизно 50 нг/мл. Якщо концентрація CYFRA 21-1 вище діапазону вимірювання, як очікується, рекомендується розбавляти зразки з CYFRA 21-1 Калібратором А перед аналізом (див. "Розрахунок результатів для розбавлених зразків").

Контроль якості
CYFRA 21-1 Контролі 1 і 2 слід використовувати для перевірки кожної серії аналізу. Діапазони очікуваних результатів зазначені на етикетках флаконів з реагентами.
Результати CYFRA 21-1 вважаються дійсними, якщо:
- Середні значення контрольних дублікатів знаходяться в межах зазначених діапазонів.
- Повтори дублікатів калібраторів B-F і Контролей не перевищують CV в 15% на основі значень оптичної щільності.
- Повтори дублікатів Контролей не перевищують CV в 15%, ґрунтуючись на значеннях концентрації.
- Повтори дублікатів Калібратора А (нуль) відрізняються один від одного не більше, ніж на 0.06 одиниць ОЩ.

Якщо результати аналізу в недійсних результатах Калібратора чи Контролю, необхідно провести повну перевірка реагентів, точність піпеток, планшетний вошер і роботу зчитувача, і повторити аналіз. Кожна лабораторія може також підготувати свої власні пули сироваток різних рівней, які можуть бути використані в якості внутрішнього контролю з метою забезпечення точності аналізу.

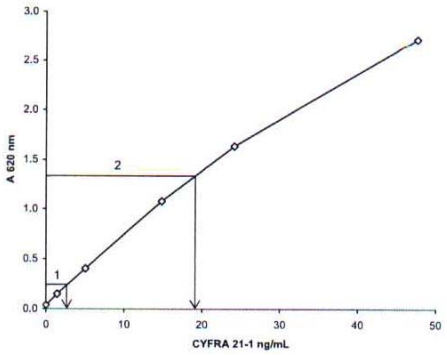
Референсний матеріал
Оскільки не існує міжнародного референсного стандарту для антигену CYFRA 21-1, значення калібраторів даного набору CYFRA 21-1 були встановлені по набору внутрішніх стандартів виробника.

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ
Якщо використовується мікропланшетний спектрофотометр з вбудованою програмою для розрахунку даних, створіть програму, яка використовує концентрацію, зазначену на етикетці кожного з CYFRA 21-1 калібраторів.
Для автоматичного розрахунку результатів CYFRA 21-1 рекомендується використовувати метод кубічної кривої сплайна. Калібратор А повинен бути включений в кривій зі значенням 0 нг/мл.
Результати CYFRA 21-1, показані в цьому листку-вкладиші, були розраховані з використанням кривої кубічного сплайна від Molecular Devices SOFTmax® PRO програмного забезпечення. Ця крива підходить до кубічного рівняння між кожною парою точок даних. Загальний вигляд кубічного рівняння: $y = A + Bx + Cx^2 + Dx^3$.

Для ручної оцінки калібрувальна крива будується відкладенням значень абсорбції (A), отриманих для кожного CYFRA 21-1 калібратора проти відповідної концентрації CYFRA 21-1 (в нг/мл). Невідомі концентрації CYFRA 21-1 потім можуть бути визначені з калібрувальної кривої з використанням середнього значення абсорбції кожного зразка пацієнта.

Приклад результатів

Зразок	Значення Калібраторів (нг/мл)	Середнє абс. значення (A)	CYFRA 21-1 нг/мл
Калібратор A	0	0.041	
Калібратор B	1.4	0.151	
Калібратор C	5.0	0.405	
Калібратор D	14.8	1.080	
Калібратор E	24.1	1.635	
Калібратор F	47.6	2.721	
Зразок 1		0.259	2.9
Зразок 2		1.366	19.4



Приклад, не використовуйте цю криву для визначення результатів аналізу. Точні концентрації CYFRA 21-1 зазначено на етикетці кожного флакону калібратора.

Примітка: Метод оцінки розрахунку результатів CYFRA 21-1 слід використовувати послідовно при використанні в процесі моніторингу пацієнта.

Розрахунок результатів з розведенням зразків
Якщо зразок дає значення CYFRA 21-1, яке перевищує діапазон вимірювань, необхідно розбавити його в співвідношенні 1/2 Калібратором А.
- 1/2 розбавлення = 100 мкл зразка + 100 мкл Калібратора А

Результати потім обчислюються наступним чином:
- Розбавлення 1/2: 2 х виміряне значення

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ
Пацієнти з підтвердженим раком легенів можуть мати значення CYFRA 21-1 в тому ж діапазоні, що і здорові суб'єкти. Підвищені рівні CYFRA 21-1 також можуть бути знайдені у пацієнтів з доброякісними хворобами, наприклад, ниркова недостатність і деякі доброякісні захворювання органів дихання (13, 18). Таким чином, рівень CYFRA 21-1 не може бути використаний як абсолютний доказ наявності або відсутності злоякісного захворювання і CYFRA 21-1 EIA не слід використовувати для скринінгу раку. Результати тесту повинні бути інтерпретовані тільки в поєднанні з іншими дослідженнями і процедурами в діагностиці захворювань і тест CYFRA 21-1 не повинен замінювати будь-яке встановлене клінічне обстеження. Продуктивність аналізу не була належним чином підтверджена для дрібноклітинного раку легенів (SCLC), великоклітинної карциноми і раку легенів стадії I та II.
Антитіла анти-реагенту (людське анти-мишаче антитіло (HAMA) або Гетерофільні антитіла) у зразку пацієнта можуть іноді заважати аналізу, хоча конкретні блокуючі агенти включені в буфері. *Надмірне перемішування може призвести до штучно занижених значень CYFRA 21-1, тому змішування зразків з використанням електричного вібраційного змішувача (Vortex) має бути обмежено максимум до 1 секунди. Якщо зразки поділені на аліквоти, обмежити порожній простір пробірки, щоб уникнути стресу під час змішування.*

ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ
Розподіл рівнів CYFRA 21-1, визначених у 875 зразках, показано в таблиці нижче:

Розподіл значень CYFRA 21-1 Аналізу

	Кількість	0 - 1,8 нг/мл	1,9 - 5,0 нг/мл	5,1 - 20,0 нг/мл	> 20.0 нг/мл
ПРАКТИЧНО ЗДОРОВІ Всі Нормалі	240	228	12	0	0
ДОБРОЯКІСНІ ЗАХВОРЮВАННЯ Доброякісні					

Захворювання Легенів	75	71	4	0	0
CHF	40	30	10	0	0
Доброякісні					
Захворювання Печінки	40	38	2	0	0
Доброякісні					
Захворювання Нирок	40	4	32	4	0
РАК					
Рак Легенів	120	47	36	24	13
Рак Сечового Міхура	40	17	3	12	8
Рак Молочної Залози	40	32	6	1	1
Рак Шийки Матки	40	24	13	3	0
Рак Стравоходу Sc	40	13	18	7	2
Шлунково-Кишковий					
Рак	40	25	10	4	1
Рак Голови І Шиї	40	30	9	1	0
Рак Простати	40	37	1	2	0
Рак Яєчників	40	23	10	5	2

CHF: Серцева недостатність; SC: Плоска клітина

У цьому дослідженні 95% здорових людей мало значення аналізу CYFRA 21-1 на рівні або нижче 1.8 нг/ мл. Рекомендується, щоб кожна лабораторія встановлювала свої значення для населення.

МОНІТОРИНГ ПЕРЕБІГУ ЗАХВОРЮВАННЯ У ПАЦІЄНТІВ З РАКОМ ЛЕГЕНЬ

Ефективність даного методу в моніторингу захворювання у пацієнтів з раком легенів була визначена при проведенні ретроспективного клінічного дослідження. Зміни в рівнях CYFRA 21-1 в серійних зразках сироватки крові, взятих від третинного онкологічного центру, порівнювалися із змінами в статусі хвороби. Дослідження включало в себе 100 пацієнтів із загальною кількістю досліджуваних пар 314, з середньою кількістю досліджень на одного пацієнта 4.1. З 100 випадків раку легенів 95 були класифіковані як не дрібноклітинний рак легенів (NCSLC) і 5 як дрібноклітинний рак легенів (SCLC). 90 з NCSLC надалі були класифіковані як аденокарцинома (68), плоскоклітинний рак (19) і великоклітинний рак (3). 79 випадків раку легенів зі 100 мали інформацію про перебіг захворювання, як показано в наступній таблиці. У цьому дослідженні тільки 5 пацієнтів знаходились на I або II етапі хвороби, продуктивність CYFRA 21-1 не була оцінена адекватно в цій субпопуляції.

	Кількість пацієнтів
Стадія I	2
Стадія II	3
Стадія III	36
Стадія IV	38
Загальна кількість (з інформацією про стадію захворювання)	**79**
Невідомі	17
Без визначеної стадії	4
Загальна кількість захворювань на рак легень	**100**

Позитивна зміна CYFRA 21-1 була визначена як відчутне збільшення значення, яке була, принаймні на 50% більше, ніж попереднє значення тесту. Пари, які спостерігались, з обома значеннями нижче нормального референсного діапазону 1,8 нг/мл, були визначені як без значної зміни. Цей рівень зміни враховує мінливість аналізу та біологічну мінливість (14).

Сорок шість відсотків (46%) або 39/85 зразків пацієнтів з позитивною зміною корелюють з прогресуванням захворювання, в той час як вісімдесят сім відсотків (87%) або 200/229 серійних зразків пацієнтів, що не мають істотної зміни в значеннях CYFRA 21-1, корелюють без прогресії. Загальне погодження склало сімдесят шість відсотків (76%) або 239/314.

ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Точність

Точність дослідження було проведено для CYFRA 21-1 EIA відповідно до керівництва EP5-A2 Інституту клінічних і лабораторних стандартів (CLSI). Панель з чотирьох зразків сироватки оцінювали, використовуючи два лоти реагентів, в двох повторах, два рази на день протягом 20 днів в двох різних лабораторіях. Об'єднані дані з двох лабораторій наводяться нижче.*

Зразок	**Реагент Партія**	**N**	**Середня конц. нг/мл**	**В аналізі SD, нг/мл**	**В аналізі CV,%**	**Всього SD, нг/мл**	**Всього CV, %**
1	1	160	2.69	0.10	3.7	0.16	6.1
	2	160	2.91	0.15	5.1	0.25	8.4
2	1	160	7.28	0.31	4.3	0.50	6.9
	2	160	7.63	0.31	4.1	0.56	7.3
3	1	160	17.4	0.42	2.4	0.92	5.3
	2	160	18.6	0.48	2.6	0.91	4.9
4	1	160	33.4	0.88	2.6	1.62	4.9
	2	160	35.7	1.37	3.8	1.99	5.6

** Типові дані; результати в окремих лабораторіях можуть відрізнятися від цих даних.*

Загальна точність, яка визначається для CYFRA 21-1 EIA, склала < 8.6% CV.

Межа виявлення та кількісна межа

Межа виявлення складає 0.12 нг/мл.

Межа виявлення (LoD) відповідає верхній межі в 95% довірчого інтервалу і являє собою найнижчу концентрацію CYFRA 21-1.

Кількісна межа (LoQ) складає 0.21 нг/мл. Ця межа відповідає найменшій кількості аналіту у зразку, який може бути визначений з найвищою допустимою неточністю в 17.78%.

Відновлення

Середнє відновлення складає 100 ± 20%.

Для аналізу використовували розведення розчину антигену з додаванням зразків людської сироватки з відомими концентраціями CYFRA 21-1.

Дані наведені у таблиці*:

Зразок	**Ендогенне значення, нг/мл**	**Доданий антиген, нг/мл**	**Отримане значення, нг/мл**	**Відновлення**, %**
1	0.5	2	2.3	93
		5	5.4	100
		16	15.4	91
		38	39.9	103
2	0.5	2	2.5	99
		5	5.2	96
		16	16.4	97
		38	39.6	102
3	0.6	2	2.6	102
		5	5.4	99
		16	16.1	95
		38	42.0	108
4	0.5	2	2.4	95
		5	5.3	98
		16	17.6	104
		38	43.1	111
5	0.5	2	2.4	96
		5	5.4	100
		16	17.1	101
		38	39.2	101

** Типові дані; результати в окремих лабораторіях можуть відрізнятися від цих даних.*

***% Відновлення = Отримана Концентрація (нг/мл)/Ендогенна Конц. (нг/мл) + Доданий антиген (нг/мл)*

Середнє відновлення всіх чотирьох насичених концентрацій, показаних вище, склало 100%.

Хук-ефект

Хук-ефект не спостерігається для зразків з концентраціями до 1100 нг/мл.

Лінійність розведення

Було проведено дослідження для CYFRA 21-1 EIA згідно з EP6-A CLSI (23). Зразки сироватки з підвищеними значеннями CYFRA 21-1 розводили CYFRA 21-1 калібратором A (нуль). Концентрація CYFRA 21-1 була визначена для кожного розведення та було розраховано відновлення у відсотках (%). Типові дані цього дослідження узагальнені в наступній таблиці*.

Зразок	**Кінцевий фактор розведення**	**Отримане значення (нг/мл)**	**Очікуване значення (нг/мл)**	**Процент відновлення** (%)**
A	Без розвед.	42.400	42.400	100.0
	1:1.25	35.969	33.920	106.0
	1:2.5	17.540	16.960	103.4
	1:5	8.513	8.480	100.4
	1:10	4.078	4.240	96.2
	1:20	2.165	2.120	102.1
	1:40	1.010	1.060	95.3
	1:100	0.416	0.424	98.1
B	Без розвед.	44.446	44.446	100.0
	1:1.25	36.524	35.557	102.7
	1:2.5	17.967	17.778	101.1
	1:5	8.292	8.889	93.3
	1:10	3.855	4.445	86.7
	1:20	2.090	2.222	94.0
	1:40	1.013	1.111	91.2
	1:100	0.494	0.444	111.1
C	Без розвед.	43.511	43.511	100.0

	1:1.25	36.738	34.809	105.5
	1:2.5	18.202	17.404	104.6
	1:5	8.606	8.702	98.9
	1:10	4.094	4.351	94.1
	1:20	2.164	2.176	99.5
	1:40	1.005	1.088	92.4
	1:100	0.399	0.435	91.7

** Типові дані; результати в окремих лабораторіях можуть відрізнятися від цих даних.*
***% Відновлення = CYFRA 21-1 Концентрація отримана x100/Концентрація очікувана*

Нелінійність, розрахована за допомогою зваженої поліноміальної регресії, становить ≤ 10% у всьому діапазоні вимірювань від 0.5 до 50.0 нг/мл.

Аналітична специфічність
Середня специфічність аналізу склала 100±15%. Дослідження проводилися для порівняння сироватки, що містить наступні сполуки у зазначених концентраціях з контрольною сироваткою. Наступні речовини і концентрації були перевірені, і виявлені такими, що не інтерферують з тестом.

Ендогенні речовини сироватки	**Концентрація**
Тригліцериди	30 мг/мл
Білірубін	0.2 мг/мл
Гемоглобін	5 мг/мл
Загальний білок	120 мг/мл
Хіміотерапевтичні ліки	**Концентрація**
Карбоплатин	500 мкг/мл
Цисплатин	165 мкг/мл
Дексаметазон	10 мкг/мл
Доксорубіцин	1.16 мкг/мл
Лейковорин	2.68 мкг/мл
Метотрексат	45 мкг/мл
Паклітаксел	3.5 мкг/мл

Потенційно заважаючі клінічні умови
6 зразків, позитивних по HAMA і 5 зразків, позитивних по ревматоїдному фактору (RF), були проаналізовані на % відновлення з CYFRA 21-1 антигеном, доданим в кожен зразок у концентраціях приблизно 5 нг/мл і 25 нг/мл. Результати представлені у таблиці *:

Клінічна умова	**Кількість зразків**	**Процент відновлення**
HAMA	6	98
RF	5	101

** Типові дані; результати в окремих лабораторіях можуть відрізнятися від цих даних.*

ГАРАНТІЯ
Будь-які зміни або модифікації процедури, не рекомендовані Fujirebio Діагностика, можуть вплинути на результати, і в цьому випадку Fujirebio Діагностика відмовляється від усіх гарантій, явних, припущених або передбачених законодавством, включаючи гарантії товарного стану та придатності для використання.

ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул.Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com

© Переклад на українську мову ТОВ «ДІАМЕБ»